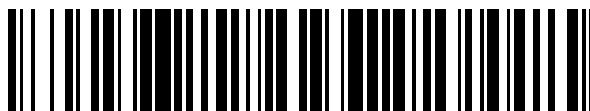


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 742 515**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/68 (2008.01)

G01N 33/487 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.06.2016 PCT/EP2016/065155**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.01.2017 WO17001484**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.06.2016 E 16733519 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.06.2019 EP 3317423**

54 Título: **Diseño y procedimientos para medir analitos usando un dispositivo nanofabricado**

30 Prioridad:

30.06.2015 US 201562187161 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

14.02.2020

73 Titular/es:

F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)

Grenzacherstrasse 124

4070 Basel , CH

72 Inventor/es:

HENCK, STEVEN

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 742 515 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Diseño y procedimientos para medir analitos usando un dispositivo nanofabricado

5 CAMPO

Esta divulgación se refiere en general a la medición de analitos y, más específicamente, a la secuenciación de biomoléculas lineales (por ejemplo, ADN, ARN, proteínas y similares) mediante un dispositivo nanofabricado que usa el efecto túnel cuántico.

10

ANTECEDENTES

En genética, el término secuenciación se puede referir a procedimientos para determinar una estructura o secuencia primaria de una biomolécula lineal, tal como ADN, ARN, aminoácidos, etc. Por ejemplo, la secuenciación de ADN es el procedimiento de determinación de un orden de bases nitrogenadas (adenina, guanina, citosina y timina) en un fragmento de ADN determinado. La secuenciación del ADN es un procedimiento potente para revelar variaciones genéticas a nivel molecular, tales como polimorfismo mononucleotídico, variación del número de copias, fusión de genes, inserción/eliminación, etc. Por tanto, es esencial para comprender los mecanismos de la enfermedad, el diagnóstico genético y la medicina personalizada.

20

Los procedimientos de secuenciación de ADN típicamente incluyen la extracción y fragmentación de ácidos nucleicos diana de una muestra. Los ácidos nucleicos fragmentados se usan para producir plantillas de ácido nucleico diana que en general incluyen uno o más adaptadores. Las plantillas se pueden someter a procedimientos de amplificación, tales como reacción en cadena de la polimerasa (PCR), amplificación en puente para proporcionar una agrupación o replicación en círculo rodante en forma de "nanoball" de ácido nucleico, también llamado nanoball de ADN (DNB). Las aplicaciones de secuenciación se realizan después en los ácidos nucleicos monocatenarios, por ejemplo, mediante secuenciación por síntesis o mediante técnicas de ligamiento. Sin embargo, dichos procedimientos de amplificación se asocian en general con altos costes, siendo necesaria una secuenciación repetitiva para una alta precisión, segmentos cortos de lectura y un largo tiempo de obtención por serie (TTR).

25

Se han creado varias tecnologías para la secuenciación del ADN a nivel monomolecular con el fin de resolver los inconvenientes de los procedimientos de amplificación. Por ejemplo, la secuenciación con nanoporos explota los cambios de la corriente iónica a medida que una base nitrogenada atraviesa un diminuto canal presente en una proteína o en un material en estado sólido sometido a una tensión aplicada y sumergido en un líquido conductor. Se puede encontrar más información sobre la secuenciación con nanoporos en Wang *et al.*, The Evolution of Nanopore Sequencing, *Frontiers in Genetics*, 2015, 5, 449. Aunque dichos procedimientos de secuenciación monomolecular superan algunos de los inconvenientes de los procedimientos de amplificación de la generación anterior, conservan, no obstante, determinadas desventajas, tales como la baja resolución que, a su vez, requiere una secuenciación repetitiva.

35

Muy recientemente, se han demostrado dispositivos para la secuenciación de ADN usando una corriente de tunelización cuántica entre electrodos. Cuando un segmento de ADN está presente en el espacio entre los electrodos, se puede detectar un cambio en la corriente de tunelización cuántica. La magnitud del cambio se puede asignar a la base nitrogenada concreta presente cuando se realiza la medición. Un ejemplo de un dispositivo que usa el efecto túnel cuántico para secuenciar el ADN es un dispositivo de unión de rotura controlable mecánicamente (MCBJ). Uno de dichos dispositivos se muestra en las FIGS. 1A-1B.

40

Como se ve en la FIG. 1A, el dispositivo MCBJ 100 incluye un sustrato de silicio 102 sobre el que se forman los electrodos de oro 108, 108'. El sustrato 102 se coloca en una sonda 104 que se pone en contacto con la superficie inferior del sustrato 102 en un punto de contacto 104', y dos miembros de fuerza 106 aplican una fuerza hacia abajo en los puntos de contacto 106' de la superficie superior del sustrato 102. Antes de aplicar la fuerza, los electrodos 108, 108' están presentes como una única estructura de electrodo de oro. La fuerza crea una tensión mecánica en la estructura del electrodo y se incrementa gradualmente hasta que la estructura del electrodo se fractura para formar los electrodos 108, 108' separados por un hueco 110 que se muestra en la vista de primer plano en la parte superior central de la FIG. 1A. La fuerza aplicada en los puntos de contacto 106' se puede incrementar o reducir para ajustar el tamaño del hueco 110 al requerido para detectar cambios en la corriente de tunelización cuántica cuando un fragmento de ADN está presente en el hueco 110.

50

La FIG. 1B muestra una imagen de microscopia electrónica de transmisión (TEM) del dispositivo MCBJ 100 que incluye el sustrato de silicio 102 y una matriz paralela de estructuras de electrodos de oro. Las estructuras de electrodo mostradas en la FIG. 1B aún no se han fracturado. Al aplicar la fuerza en los puntos de contacto 106' representados en la FIG. 1A, las estructuras de electrodo de la FIG. 1B se fracturarán para formar los electrodos 108, 108' separados por el hueco 110.

60

El dispositivo MCBJ 100 mostrado en las FIGS. 1A-1B se puede usar para secuenciar el ADN a nivel monomolecular midiendo los cambios en la corriente de tunelización cuántica a través de los electrodos 108, 108' cuando una base

65

nitrogenada está presente en el hueco 110. El dispositivo 100, sin embargo, está asociado con una serie de desventajas. Por ejemplo, las dimensiones laterales de los electrodos 108, 108' se deben controlar con precisión para crear la anchura del hueco 110 necesaria para observar los cambios en la corriente de tunelización cuántica cuando hay una base nitrogenada presente en el hueco 110. A medida que el sustrato de silicio 102 se flexiona después de la fractura, la separación entre los electrodos 108, 108' se puede ajustar y, por tanto, la anchura del hueco se puede fijar en el valor adecuado. Sin embargo, ninguno de los demás electrodos de la matriz puede tener un hueco con la separación precisa necesaria. Como resultado, solo un sensor MCBJ puede funcionar en un chip en cualquier anchura de hueco ajustada específica. Además, el dispositivo MCBJ 100 requiere el uso de oro para los electrodos 108, 108'. Debido a su alta difusividad en el silicio y su tendencia a retener las cargas, el oro está típicamente prohibido en las fundiciones de semiconductores. Por tanto, la fabricación del dispositivo MCBJ 100 requiere instalaciones de fabricación especializadas además de técnicas no convencionales de litografía y modelado.

En consecuencia, sería deseable proporcionar dispositivos y procedimientos mejorados para la secuenciación del ADN y otras biomoléculas lineales a nivel monomolecular.

BREVE SUMARIO

Los modos de realización de la invención proporcionan dispositivos mejorados, procedimientos de fabricación de dispositivos y procedimientos de uso de dispositivos para secuenciar biomoléculas lineales a nivel monomolecular usando el efecto túnel cuántico. En algunos modos de realización, se proporciona un dispositivo nanofabricado que incluye un sustrato, un primer electrodo dispuesto en una primera parte de una superficie superior del sustrato, una capa dieléctrica dispuesta como segunda parte de la superficie superior del sustrato, y un segundo electrodo dispuesto en la capa dieléctrica y suspendido sobre el primer electrodo. Se puede definir un hueco entre una superficie superior del primer electrodo y una superficie inferior del segundo electrodo. La anchura del hueco puede estar nanodimensionada (por ejemplo, de 0,8 a 5,0 nm) y puede corresponder al tamaño de una biomolécula lineal (por ejemplo, una molécula de ADN, ARN o proteína) de modo que se transmita una corriente de tunelización cuántica entre los electrodos cuando se aplica una tensión a través de los electrodos (es decir, cuando los electrodos tienen diferentes potenciales) y una parte de la molécula lineal (por ejemplo, una base nitrogenada o aminoácido) está presente en el hueco.

Otros modos de realización se refieren a procedimientos para fabricar un dispositivo nanofabricado para secuenciar biomoléculas lineales a nivel monomolecular y usando el efecto túnel cuántico. Los procedimientos pueden incorporar técnicas de deposición tales como la deposición de capas atómicas (ALD) para formar una anchura de hueco altamente precisa adecuada para detectar cambios en la corriente (o tensión) de tunelización cuántica cuando una base nitrogenada está presente en el hueco. La ALD puede implicar la aplicación secuencial de dos productos químicos precursores de fase gaseosa sobre un sustrato. Los precursores reaccionan con la superficie del sustrato de forma secuencial y autolimitada. Al exponer los precursores a la superficie del sustrato repetidamente, se puede depositar una película delgada. Dado que la película delgada crece un átomo o una molécula cada vez, el grosor de la película se puede controlar con precisión. La película de ALD se puede depositar entre dos capas conductoras modeladas para formar dos electrodos, y la separación entre los electrodos se controla con precisión por el grosor de la película de ALD. Al retirar la película de ALD de la región entre las capas conductoras, se puede crear un hueco entre los electrodos con dimensiones precisas. Ciertos modos de realización de la invención también pueden utilizar otras técnicas de deposición tales como deposición química de vapor (CVD), deposición física de vapor (PVD), pulverización iónica (IBS), pulverización reactiva y similares para formar una película fungible que, cuando se retira, proporciona el hueco de anchura deseada.

Otros modos de realización se refieren a procedimientos de uso de un dispositivo nanofabricado para secuenciar biomoléculas lineales a nivel monomolecular y usando el efecto túnel cuántico. Como se describió anteriormente, el dispositivo nanofabricado puede incluir un hueco formado con precisión entre dos electrodos. Aunque no puede haber conexión eléctrica directa entre los electrodos, puede pasar una pequeña cantidad de corriente de un electrodo a otro cuando se aplica una tensión. Las biomoléculas lineales tales como ADN, ARN, proteínas y similares se caracterizan por una impedancia. Cuando una molécula lineal de este tipo atraviesa el hueco, la presencia de la biomolécula puede afectar a la cantidad de corriente de tunelización cuántica. Las bases nitrogenadas individuales (por ejemplo, adenina, guanina, citosina y timina) y los aminoácidos se caracterizan por diferentes valores de impedancia. Por tanto, el cambio en la corriente de tunelización cuántica puede depender de la base nitrogenada o aminoácido concreto presente en el hueco cuando se realiza la medición. A medida que la biomolécula atraviesa el hueco entre los electrodos con la separación definida con precisión, los cambios secuenciales en la corriente o tensión de tunelización medida pueden reflejar la secuencia de la biomolécula.

Algunos modos de realización proporcionan un dispositivo para secuenciar una biomolécula lineal usando el efecto túnel cuántico, comprendiendo el dispositivo: un sustrato que tiene una superficie superior; un primer electrodo dispuesto en una primera parte de la superficie superior del sustrato; una primera capa dieléctrica dispuesta sobre una segunda parte de la superficie superior del sustrato; un segundo electrodo dispuesto en la primera capa dieléctrica y suspendido sobre el primer electrodo; y un hueco definido por una superficie superior del primer electrodo y una superficie inferior del segundo electrodo, en el que una anchura del hueco corresponde a un tamaño de la biomolécula lineal de modo que se transmite una corriente de tunelización cuántica entre el primer electrodo y el segundo electrodo

cuando: se aplica una tensión a través del primer electrodo y el segundo electrodo; y una parte de la biomolécula lineal está presente en el hueco.

5 En algunos modos de realización, el sustrato comprende una segunda capa dieléctrica dispuesta sobre un sustrato semiconductor. En otros modos de realización, la anchura del hueco es de aproximadamente 0,8 a 5,0 nm. En algunos modos de realización, el hueco está definido adicionalmente por una superficie superior de la primera capa dieléctrica y una superficie lateral del segundo electrodo. En otros modos de realización, la superficie superior de la primera capa dieléctrica y la superficie superior del primer electrodo son sustancialmente coplanares. En algunos modos de realización, el primer electrodo y el segundo electrodo están orientados ortogonalmente entre sí. En otros modos de realización, el dispositivo comprende además circuitos acoplados eléctricamente al primer electrodo y al segundo electrodo, en los que los circuitos están configurados para: aplicar la tensión a través del primer electrodo y el segundo electrodo; y medir: la corriente de tunelización cuántica transmitida entre el primer electrodo y el segundo electrodo; la tensión a través del primer electrodo y el segundo electrodo; o una impedancia entre el primer electrodo y el segundo electrodo. En algunos modos de realización, el primer electrodo y el segundo electrodo comprenden individualmente un material seleccionado de un grupo que consiste en metales, semiconductores, carbono, materiales cerámicos conductores y polímeros conductores. En otros modos de realización, la primera capa dieléctrica comprende un material seleccionado del grupo que consiste en óxidos, materiales cerámicos dieléctricos, polímeros, carbonatos, vidrios, minerales y aire.

20 Otros modos de realización proporcionan un procedimiento para fabricar un dispositivo para secuenciar una biomolécula lineal usando el efecto túnel cuántico, comprendiendo el procedimiento: proporcionar un sustrato que tiene una superficie superior; depositar un primer electrodo sobre una primera parte de la superficie superior del sustrato; depositar una primera capa dieléctrica sobre una segunda parte de la superficie superior del sustrato; depositar una capa fungible sobre una superficie superior del primer electrodo; depositar un segundo electrodo sobre la capa fungible y sobre una superficie superior de la primera capa dieléctrica; y retirar la capa fungible, formando de este modo un hueco definido por la superficie superior del primer electrodo y una superficie inferior del segundo electrodo, en el que una anchura del hueco corresponde a un tamaño de la biomolécula lineal de modo que se transmite una corriente de tunelización cuántica entre el primer electrodo y el segundo electrodo cuando: se aplica una tensión a través del primer electrodo y el segundo electrodo; y una parte de la biomolécula lineal está presente en el hueco.

35 En algunos modos de realización, el sustrato comprende una segunda capa dieléctrica dispuesta sobre un sustrato semiconductor. En otros modos de realización, la anchura del hueco es de aproximadamente 0,8 a 5,0 nm. En algunos modos de realización, la capa fungible se deposita adicionalmente sobre la superficie superior de la primera capa dieléctrica, en la que el hueco está definido adicionalmente por la superficie superior de la primera capa dieléctrica y una superficie lateral del segundo electrodo. En otros modos de realización, la superficie superior de la primera capa dieléctrica y la superficie superior del primer electrodo son sustancialmente coplanares. En algunos modos de realización, el primer electrodo y el segundo electrodo están orientados ortogonalmente entre sí. En otros modos de realización, la capa fungible se deposita usando un procedimiento de deposición de capas atómicas. En algunos modos de realización, la capa fungible se retira mediante un procedimiento de decapado, en el que el procedimiento de decapado incluye exponer la capa fungible a un mordiente. En otros modos de realización, la capa fungible comprende un material seleccionado del grupo que consiste en metales, óxidos, nitruros y materiales que contienen carbono. En algunos modos de realización, el mordiente comprende una sustancia seleccionada del grupo que consiste en ácido fluorhídrico, ácido fosfórico, ácido clorhídrico, ácido nítrico, hidróxido de sodio, solución SC-1, disolventes orgánicos y plasma de O₂. En otros modos de realización, el procedimiento comprende además acoplar eléctricamente circuitos al primer electrodo y al segundo electrodo, en los que los circuitos están configurados para: aplicar la tensión a través del primer electrodo y el segundo electrodo; y medir: la corriente de tunelización cuántica transmitida entre el primer electrodo y el segundo electrodo; la tensión a través del primer electrodo y el segundo electrodo; o una impedancia entre el primer electrodo y el segundo electrodo. En algunos modos de realización, el primer electrodo y el segundo electrodo comprenden individualmente un material seleccionado del grupo que consiste en metales, semiconductores, carbono, materiales cerámicos conductores y polímeros conductores. En otros modos de realización, la primera capa dieléctrica comprende un material seleccionado del grupo que consiste en óxidos, materiales cerámicos dieléctricos, polímeros, carbonatos, vidrios, minerales y aire.

55 Otros modos de realización proporcionan un procedimiento de uso de un dispositivo para secuenciar una biomolécula lineal usando el efecto túnel cuántico, comprendiendo el procedimiento: proporcionar el dispositivo que comprende: un sustrato que tiene una superficie superior; un primer electrodo dispuesto en una primera parte de la superficie superior del sustrato; una primera capa dieléctrica dispuesta sobre una segunda parte de la superficie superior del sustrato; un segundo electrodo dispuesto en la primera capa dieléctrica y suspendido sobre el primer electrodo; un hueco definido por una superficie superior del primer electrodo y una superficie inferior del segundo electrodo; y circuitos acoplados eléctricamente al primer electrodo y al segundo electrodo; aplicar, usando los circuitos, una tensión a través del primer electrodo y el segundo electrodo; introducir una parte de la biomolécula lineal en el hueco; medir, usando los circuitos: una corriente de tunelización cuántica transmitida entre el primer electrodo y el segundo electrodo; la tensión a través del primer electrodo y el segundo electrodo; o una impedancia entre el primer electrodo y el segundo electrodo; e identificar, basado en la corriente de tunelización cuántica medida, la tensión medida o la impedancia medida, la parte de la biomolécula lineal introducida en el hueco.

En algunos modos de realización, la biomolécula lineal se selecciona del grupo que consiste en ADN, ARN, polipéptidos y proteínas. En otros modos de realización, la parte de la biomolécula lineal comprende una base nitrogenada o un aminoácido. En algunos modos de realización, el sustrato comprende una segunda capa dieléctrica dispuesta sobre un sustrato semiconductor. En otros modos de realización, una anchura del hueco es de aproximadamente 0,8 a 5,0 nm. En algunos modos de realización, el hueco está definido adicionalmente por una superficie superior de la primera capa dieléctrica y una superficie lateral del segundo electrodo, en el que la superficie superior de la primera capa dieléctrica y la superficie superior del primer electrodo son sustancialmente coplanares, y en el que el primer electrodo y el segundo electrodo están orientados ortogonalmente entre sí. En otros modos de realización, el primer electrodo y el segundo electrodo comprenden individualmente un material seleccionado del grupo que consiste en metales, semiconductores, carbono, materiales cerámicos conductores y polímeros conductores. En algunos modos de realización, la primera capa dieléctrica comprende un material seleccionado del grupo que consiste en óxidos, materiales cerámicos dieléctricos, polímeros, carbonatos, vidrios, minerales y aire.

Se puede obtener una mejor comprensión de la naturaleza y de las ventajas de los modos de realización de la presente invención con referencia a la siguiente descripción detallada y a los dibujos adjuntos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

En la FIG. 1A se muestra un esquema de un dispositivo MCBJ existente usado para secuenciar ADN mediante la medición de la corriente de tunelización cuántica a través de una unión de rotura formada entre electrodos de oro.

En la FIG. 1B se muestra una imagen de TEM del MCBJ representado en la FIG. 1A que incluye la estructura de electrodos de oro antes de formar la unión de rotura.

En la FIG. 2A se muestra una vista lateral esquemática en sección transversal de un dispositivo nanofabricado para secuenciar biomoléculas lineales usando el efecto túnel cuántico de acuerdo con modos de realización de la presente invención.

En la FIG. 2B se muestra una vista superior esquemática de un dispositivo nanofabricado para secuenciar biomoléculas lineales usando el efecto túnel cuántico de acuerdo con modos de realización de la presente invención.

Las FIGS. 3A-3H ilustran un procedimiento para fabricar un dispositivo para secuenciar una biomolécula lineal usando el efecto túnel cuántico de acuerdo con modos de realización de la presente invención.

En la FIG. 4 se muestra un diagrama de flujo que ilustra un procedimiento de uso de un dispositivo para secuenciar una biomolécula lineal usando el efecto túnel cuántico de acuerdo con modos de realización de la presente invención.

En la FIG. 5 se muestra un diagrama de bloques de un sistema informático ejemplar que se puede usar para secuenciar biomoléculas lineales usando el efecto túnel cuántico de acuerdo con modos de realización de la presente invención.

DEFINICIONES

Las siguientes definiciones pueden ser útiles para proporcionar antecedentes para una comprensión de los modos de realización de la invención.

Una "biomolécula lineal" se refiere a un tipo de molécula que está presente en un organismo vivo en forma de polímeros que contienen unidades monoméricas que están unidas covalentemente para formar una estructura más grande similar a una cadena. Las biomoléculas lineales ejemplares incluyen, pero no se limitan a, polinucleótidos (por ejemplo, ADN y ARN), polipéptidos y proteínas. En algunos modos de realización, las biomoléculas lineales también pueden incluir biomoléculas ramificadas o cíclicas que incluyen una o más partes lineales.

Una "parte de una molécula lineal" se refiere a un monómero de una biomolécula lineal. Las partes ejemplares de biomoléculas lineales incluyen, pero no se limitan a, bases nitrogenadas y aminoácidos.

Una "base nitrogenada" se refiere a moléculas orgánicas que contienen nitrógeno que sirven como monómeros de polinucleótidos tales como ADN y ARN. Las bases nitrogenadas ejemplares incluyen, pero no se limitan a, citosina, guanina, adenina, timina y uracilo.

Un "aminoácido" se refiere a compuestos orgánicos que comprenden grupos amino y ácido carboxílico, y una cadena lateral, y que sirven como monómeros de polipéptidos y proteínas.

"Efecto túnel cuántico" se refiere al fenómeno de la mecánica cuántica donde una partícula penetra a través de una barrera de energía que la mecánica clásica (es decir, newtoniana) concluye que la partícula no podía atravesar. En el caso de los electrones que penetran a través de una barrera de energía entre dos electrodos, dicha penetración se

denomina "corriente de tunelización cuántica".

Un "electrodo" se refiere a un elemento de un circuito que comprende un material conductor de electricidad y que entra en contacto con una parte no metálica de un circuito tal como el aire o el vacío. Los materiales eléctricamente conductores adecuados incluyen, pero no se limitan a, metales, semiconductores, carbono, materiales cerámicos conductores y polímeros conductores.

Una "capa dieléctrica" se refiere a una capa que comprende un material aislante que es mal conductor eléctrico. Los materiales dieléctricos ejemplares incluyen, pero no se limitan a, óxidos, materiales cerámicos dieléctricos, polímeros, carbonatos, vidrios, minerales y aire.

"Deposición de capas atómicas" se refiere a una técnica de deposición de película delgada donde uno o más precursores en fase gaseosa reaccionan con la superficie de un sustrato de forma autolimitada de modo que la reacción termina una vez que se consumen todos los sitios reactivos en la superficie. En algunos modos de realización, la deposición de capas atómicas puede implicar exponer un sustrato a dos precursores en fase gaseosa de una manera secuencial. En algunos otros modos de realización, la deposición de capas atómicas puede implicar depositar una película delgada por medio de un único precursor usando, por ejemplo, plasma o procedimientos mejorados por radicales.

Una "capa fungible" se refiere a una capa formada de material que se retira posteriormente mediante un procedimiento tal como el decapado. Los materiales de la capa fungible ejemplares incluyen, pero no se limitan a, metales, óxidos, nitruros y materiales que contienen carbono.

"Decapado" se refiere al procedimiento de usar una sustancia corrosiva (es decir, un mordiente) para disolver un material sólido. Los mordientes ejemplares incluyen, pero no se limitan a, ácido fluorhídrico, ácido fosfórico, ácido clorhídrico, ácido nítrico, hidróxido de sodio, solución SC-1, disolventes orgánicos y decapado con plasma. El decapado con plasma puede implicar una corriente de descarga luminiscente (plasma) de una mezcla de gases adecuada. La fuente de plasma, conocida como especie mordiente, puede estar cargada (iones) o ser neutra (átomos y radicales), creada en un sistema de vacío por medio de radiofrecuencia o excitaciones por microondas. "Decapado selectivo" se refiere al procedimiento de selección y uso de un mordiente determinado que disuelve un primer material sólido, pero no disuelve un segundo material sólido que puede estar contiguo al primer material sólido.

"Circuitos" se refiere a un circuito electrónico o sistema de circuitos electrónicos que realiza una o más funciones en un dispositivo electrónico. Los circuitos electrónicos pueden incluir componentes electrónicos tales como resistencias, transistores, condensadores, inductores y diodos, conectados por líneas o cables conductores a través de los que puede circular la corriente eléctrica. Los circuitos pueden incluir uno o más circuitos integrados y, en algunos modos de realización, pueden incluir programa informático ejecutado por uno o más circuitos integrados.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Los modos de realización pueden proporcionar dispositivos mejorados, procedimientos de fabricación de dispositivos y procedimientos de uso de dispositivos para secuenciar biomoléculas lineales a nivel monomolecular usando el efecto túnel cuántico. En algunos modos de realización, se proporciona un dispositivo nanofabricado que incluye un hueco formado con precisión dispuesto entre dos electrodos y que tiene una anchura muy pequeña (por ejemplo, de 0,8 a 5,0 nm). La anchura del hueco puede corresponder al tamaño de una biomolécula lineal tal como ADN, ARN, un polipéptido, una proteína y similares. Cuando una parte de la biomolécula lineal (por ejemplo, una base nitrogenada o un aminoácido) está presente en el hueco y se aplica una tensión a través de los electrodos, se puede medir un cambio en la corriente (o tensión) de tunelización cuántica. La magnitud del cambio se puede asignar a la parte concreta de la biomolécula presente en el momento de la medición. A medida que la biomolécula lineal (o el fragmento molecular) atraviesa el hueco, se puede realizar la secuenciación tomando mediciones subsiguientes a intervalos de tiempo seleccionados en función de la velocidad de desplazamiento de la biomolécula.

El hueco dimensionado con precisión se puede formar depositando una película delgada entre dos electrodos usando un procedimiento de deposición tal como ALD. La película fungible se puede retirar por medio de un decapado selectivo, en el que el espacio vacío resultante forma el hueco. Dado que procedimientos tales como ALD pueden depositar capas de un material deseado con el grosor de un solo átomo o molécula, el grosor de la película se puede controlar con precisión, lo que da como resultado de este modo un hueco de tunelización cuántica diseñado para tener la anchura deseada con un nivel de precisión muy alto. Además, al usar procedimientos de deposición para formar los dispositivos nanofabricados de la presente invención, pueden colocarse muchos detectores en un solo chip de circuito integrado. Debido al gran número de bases nitrogenadas en una molécula de ADN o ARN, por ejemplo, la secuenciación se puede realizar a un ritmo rápido, ya que se pueden secuenciar muchos fragmentos simultáneamente.

Además, los procedimientos de la presente invención para fabricar dispositivos nanofabricados se pueden realizar usando un equipo de procesamiento de semiconductores disponible en general y usando materiales comúnmente usados en las fundiciones de semiconductores. Algunas fundiciones de semiconductores prohíben el uso de oro y

otros determinados metales de transición que pueden actuar como centros de recombinación de carga. Dichos metales muestran una alta difusividad en el silicio y, por tanto, la contaminación en la superficie de una oblea puede dar lugar a la retención de cargas en las regiones de disminución de las uniones p-n durante el procesamiento térmico. Aunque los modos de realización de la presente invención pueden utilizar oro como material de los electrodos (es decir, como se hace en dispositivos MCBJ existentes), se pueden usar otros materiales distintos del oro y de los metales de transición que retienen cargas. En algunos modos de realización, los procedimientos de la presente invención también pueden usar técnicas de fabricación de semiconductores existentes (por ejemplo, deposición, fotolitografía, decapado y similares) para formar los dispositivos nanofabricados. Al usar equipos de procesamiento, técnicas y materiales compatibles con la fabricación de semiconductores existente, los dispositivos nanofabricados de la presente invención se pueden fabricar de una manera más rápida y rentable en comparación con los dispositivos de secuenciación monomolecular existentes.

I. DISPOSITIVO NANOFABRICADO

En la FIGS. 2A-2B se muestran esquemas de un dispositivo nanofabricado 200 para secuenciar biomoléculas lineales usando el efecto túnel cuántico de acuerdo con modos de realización de la presente invención. En la FIG. 2A se muestra una vista lateral en sección transversal del dispositivo 200, y en la FIG. 2B se muestra una vista superior del dispositivo 200. Cabe destacar que los esquemas del dispositivo 200 que se muestran en las FIGS. 2A-2B son simplemente una configuración posible, y un experto en la técnica apreciará que los modos de realización de la presente invención engloban otras configuraciones.

Como se muestra en la FIG. 2A, el dispositivo 200 puede incluir un sustrato 202 que tiene una superficie superior, un primer electrodo 204 dispuesto sobre una primera parte de la superficie superior del sustrato 202, una primera capa dieléctrica 206 dispuesta sobre una segunda parte de la superficie superior del sustrato 202, y un segundo electrodo 208 dispuesto en la primera capa dieléctrica 206 y suspendido sobre el primer electrodo 204. Como se muestra en la FIG. 2A, el dispositivo 200 puede incluir un hueco 210 definido por una superficie superior del primer electrodo 204 y una superficie inferior del segundo electrodo 208. La anchura del hueco 210 (es decir, la distancia entre la superficie superior del primer electrodo 204 y la superficie inferior del segundo electrodo 208) puede corresponder a un tamaño de una biomolécula lineal de modo que se transmita una corriente de tunelización cuántica entre el primer electrodo 204 y el segundo electrodo 208 cuando se aplica una tensión a través del primer electrodo 204 y el segundo electrodo 208 y una parte de la biomolécula lineal está presente en el hueco 210.

Como se describe con más detalle a continuación, la anchura del hueco 210 se puede dimensionar con precisión usando un procedimiento de deposición tal como ALD para formar una capa fungible entre el primer electrodo 204 y el segundo electrodo 208. La capa fungible se puede retirar posteriormente (por ejemplo, por medio de decapado selectivo) para formar un hueco 210. La anchura del hueco 210 se puede dimensionar para que se corresponda con el tamaño del tipo de biomolécula lineal que se va a secuenciar usando el dispositivo 200. En algunos modos de realización, la anchura del hueco 210 puede ser de aproximadamente 0,8 a 5,0 nm. Cuando el dispositivo 200 se usa para secuenciar biomoléculas lineales pequeñas tales como ADN o ARN, la anchura del hueco 210 puede ser de aproximadamente 0,8 a 1,2 nm en algunos modos de realización. Para biomoléculas más grandes, tales como polipéptidos o proteínas, la anchura del hueco 210 puede ser de aproximadamente 1,2 a 5,0 nm en algunos modos de realización.

La anchura del hueco 210 puede ser ajustable en algunos modos de realización. Por ejemplo, la primera capa dieléctrica 206 puede incluir (o se puede reemplazar por) un elemento piezoeléctrico que comprende un material que se expande en volumen en respuesta a un campo electromagnético aplicado. Como se muestra en la FIG. 2A, en este ejemplo no limitante, una expansión del elemento piezoeléctrico en la dirección vertical puede provocar que el segundo electrodo 208 se mueva en la dirección vertical, incrementando de este modo la anchura del hueco 210.

En algunos modos de realización, como se muestra en la FIG. 2A, el hueco 210 puede estar definido adicionalmente por una superficie superior de la primera capa dieléctrica 206 y una superficie lateral del segundo electrodo 208. En dichos modos de realización, la superficie superior de la primera capa dieléctrica 206 y la superficie superior del primer electrodo 204 pueden ser sustancialmente coplanares. En algunos otros modos de realización, el primer electrodo 204 puede estar empotrado de modo que su superficie superior esté en un plano por debajo del formado por la superficie superior de la primera capa dieléctrica 206. En dichos modos de realización, el hueco 210 puede estar definido adicionalmente por una superficie lateral de la primera capa dieléctrica 206.

El primer electrodo 204 y el segundo electrodo 208 pueden comprender cada uno cualquier material eléctricamente conductor adecuado, incluyendo, pero sin limitarse a, metales, semiconductores, carbono, materiales cerámicos conductores y polímeros conductores. Los metales ejemplares pueden incluir Cu, W, Ti, Au, Ag, Al, Zn, Ni, Fe, Pt, Ta y similares. Los semiconductores ejemplares pueden incluir Si, Ge, SiGe, GaAs, InP y similares. Los alótropos y morfologías de carbono ejemplares pueden incluir diamante, grafito, grafeno, nanotubos, nanofibras, fibras de carbono crecidas en fase de vapor (VGCF) y similares. En algunos modos de realización, se pueden usar compuestos que contienen carbono como material para el primer electrodo 204 y el segundo electrodo 208. Los materiales cerámicos conductores ejemplares pueden incluir TiN, TaN, óxido de indio y estaño (ITO), titanato de estroncio dopado con lantano (SLT), titanato de estroncio dopado con itrio (SYT) y similares. Los polímeros conductores ejemplares pueden

incluir poli(pirrol)es (PPY), polianilinas (PANI), poli(tiofeno)s (PT), poli(3,4-etilendioxitiofeno) (PEDOT), poli(sulfuro de p-fenilo) (PPS), poli(acetileno)s (PAC), poli(p-fenileno vinileno) (PPV) y similares.

5 En algunos modos de realización, el primer electrodo 204 y el segundo electrodo 208 pueden comprender el mismo material eléctricamente conductor. En otros modos de realización, el primer electrodo 204 y el segundo electrodo 208 pueden comprender diferentes materiales eléctricamente conductores.

10 La primera capa dieléctrica 206 puede comprender cualquier material eléctricamente aislante adecuado incluyendo, pero sin limitarse a, óxidos, materiales cerámicos dieléctricos, polímeros, carbonatos, vidrios, minerales y aire. Los óxidos ejemplares pueden incluir SiO₂, Si₂O₃, Al₂O₃, ZrO₂, Fe₂O₃, MgO, ZnO, Ta₂O₅, HfO₂, titanatos y similares. Los materiales cerámicos dieléctricos ejemplares pueden incluir Si₃N₄, SiC, SiAlON, AlN y similares. Los polímeros ejemplares pueden incluir parafeno, fotopolímeros (por ejemplo, sustancias fotorresistentes), cauchos hidrocarbonados (por ejemplo, EPM, EPDM y similares), nitrilos, polietilenos, poliuretanos, siliconas y similares. Los carbonatos ejemplares pueden incluir CaCO₃, MgCO₃ y similares. Los vidrios ejemplares pueden incluir vidrio de borosilicato, vidrio de sosa cálcica y similares. Los minerales ejemplares pueden incluir mica, esteatita, cordierita y similares.

20 Como se muestra en la FIG. 2A, en algunos modos de realización, el sustrato 202 puede incluir una segunda capa dieléctrica 212 dispuesta sobre un sustrato semiconductor 214. La segunda capa dieléctrica 212 puede comprender cualquier material eléctricamente aislante adecuado descrito anteriormente con respecto a la primera capa dieléctrica 206. En algunos modos de realización, la primera capa dieléctrica 206 y la segunda capa dieléctrica 212 pueden comprender el mismo material eléctricamente aislante. En otros modos de realización, la primera capa dieléctrica 206 y la segunda capa dieléctrica 212 pueden comprender diferentes materiales eléctricamente aislantes. En la FIG. 2A, la primera capa dieléctrica 206 y la segunda capa dieléctrica 212 se representan como dos capas separadas. En algunos modos de realización, la primera capa dieléctrica 206 y la segunda capa dieléctrica 212 en combinación pueden ser una capa única de material eléctricamente aislante.

30 El sustrato semiconductor 214 puede comprender cualquier material semiconductor adecuado incluyendo, pero sin limitarse a, Si, Ge, SiGe, GaAs, InP y similares. En algunos modos de realización, el sustrato semiconductor 214 puede ser un chip de circuito integrado que comprende circuitos 216 que pueden estar acoplados eléctricamente al primer electrodo 204 y al segundo electrodo 208. Por ejemplo, en algunos modos de realización, los circuitos 216 pueden estar acoplados eléctricamente al primer electrodo 204 usando una primera vía a través de la segunda capa dieléctrica 212, y los circuitos 216 pueden estar acoplados eléctricamente al segundo electrodo 208 usando una segunda vía a través de la segunda capa dieléctrica 212 y la primera capa dieléctrica 206. Los circuitos 216 se pueden configurar para aplicar una tensión a través del primer electrodo 204 y el segundo electrodo 208, y medir la corriente de tunelización cuántica transmitida entre (o la tensión a través de) el primer electrodo 204 y el segundo electrodo 208.

40 Como se describe en el presente documento, cuando una parte de una biomolécula lineal está presente en el hueco 210 y se aplica una tensión a través del primer electrodo 204 y el segundo electrodo 208, se puede transmitir una corriente de tunelización cuántica entre el primer electrodo 204 y el segundo electrodo 208. La corriente de tunelización cuántica (o la tensión resultante) medida se puede asignar a la parte concreta de la biomolécula presente en el hueco 210, y la secuenciación se puede lograr repitiendo las mediciones a medida que la biomolécula atraviesa el hueco 210. Los circuitos 216 se pueden configurar para realizar dichas operaciones de asignación o, de forma alternativa, pueden transmitir mediciones de corriente o tensión a un dispositivo informático externo configurado para realizar algunas o todas las operaciones de asignación.

50 En la FIG. 2A se representa que los circuitos 216 están contenidos dentro del sustrato semiconductor 214 del dispositivo 200. En otros modos de realización, todos o una parte de los circuitos 216 pueden estar presentes fuera del sustrato 202. Por ejemplo, uno o más transistores, condensadores, resistencias, diodos y/o inductores de los circuitos 216 pueden residir externamente al sustrato 202 o externamente al dispositivo 200 en su totalidad. Por ejemplo, en algunos modos de realización, todos o una parte de los circuitos 216 pueden tener la forma de un chip de circuito integrado externo o cualquier otra configuración adecuada externa al dispositivo 200.

55 En la FIG. 2B se muestra una vista superior esquemática del dispositivo 200 incluyendo el primer electrodo 204, la primera capa dieléctrica 206 y el segundo electrodo 208. Como se representa en la FIG. 2B, el primer electrodo 204 y el segundo electrodo 208 pueden estar orientados ortogonalmente entre sí. Esto, sin embargo, no pretende ser limitante. En otros modos de realización, el primer electrodo 204 y el segundo electrodo 208 pueden estar orientados paralelos entre sí o en cualquier ángulo adecuado entre 0 y 180°, siempre que haya un hueco 210 entre el primer electrodo 204 y el segundo electrodo 208.

60 El dispositivo 200 puede ser uno de muchos dispositivos en un solo chip de circuito integrado. Por ejemplo, la superficie superior del sustrato semiconductor 214 puede ser lo suficientemente grande como para soportar una matriz de muchos dispositivos, cada uno de ellos incluyendo la primera capa dieléctrica 206, la segunda capa dieléctrica 212, el primer electrodo 204, el segundo electrodo 208 y el hueco 210. En algunos modos de realización, cada dispositivo puede estar separado por una capa dieléctrica para evitar que los electrodos en dispositivos contiguos entren en

contacto eléctrico o físico entre sí. En algunos modos de realización, cada dispositivo de una matriz puede incluir sus propios circuitos (por ejemplo, los circuitos 216) para aplicar tensiones y medir la corriente o la tensión de tunelización cuántica generada dentro del dispositivo concreto (es decir, el dispositivo 200). En algunos otros modos de realización, los circuitos para múltiples dispositivos se pueden integrar de modo que los circuitos 216 apliquen tensiones y midan las corrientes o tensiones de tunelización cuántica cuando hay biomoléculas lineales en los huecos de algunos o todos los dispositivos de la matriz.

Al proporcionar múltiples dispositivos en un solo chip de circuito integrado, muchos fragmentos de biomoléculas se pueden secuenciar simultáneamente, ya que se pueden realizar mediciones de tensión y corriente de tunelización cuántica a medida que los fragmentos atraviesan los huecos de cada dispositivo de la matriz. Como resultado, las biomoléculas lineales se pueden secuenciar a nivel monomolecular con mayor velocidad y eficiencia.

II. PROCEDIMIENTO DE FABRICACIÓN DE UN DISPOSITIVO NANOFABRICADO

Los modos de realización de la invención también proporcionan procedimientos de fabricación de un dispositivo nanofabricado para secuenciar biomoléculas lineales a nivel monomolecular y usando el efecto túnel cuántico. En dichos procedimientos se pueden usar equipos y materiales de procesamiento de semiconductores en general disponibles compatibles con los procedimientos de fabricación de semiconductores existentes. Además, las técnicas de fabricación de semiconductores existentes (por ejemplo, fotolitografía, decapado, deposición y similares) se pueden usar para formar los dispositivos nanofabricados. Como resultado, los dispositivos nanofabricados de la presente invención se pueden fabricar de una manera más rápida y rentable en comparación con los dispositivos de secuenciación monomolecular existentes.

A. *Procedimientos de fabricación de semiconductores*

Los modos de realización de la invención proporcionan procedimientos de fabricación de dispositivos nanofabricados usando, al menos en parte, técnicas de fabricación de semiconductores existentes tales como fotolitografía, litografía por haz de electrones (haz electrónico), decapado, deposición y similares.

La fotolitografía se utiliza en la industria de los semiconductores para modelar materiales sólidos tales como obleas de semiconductores (por ejemplo, de Si). La técnica usa la luz para transferir un patrón geométrico de una fotomáscara a un producto químico fotosensible llamado "sustancia fotorresistente" dispuesto en la superficie del material. La fotomáscara puede ser una placa opaca que incluye regiones transparentes que permiten el paso de la luz a su través en el patrón geométrico concreto. Se pueden usar tratamientos químicos posteriores para grabar el patrón de exposición en el material debajo de la sustancia fotorresistente, y dichos tratamientos también se pueden usar para permitir que se deposite un nuevo material en el patrón geométrico. Se pueden realizar varios ciclos de fotolitografía para fabricar un material que tenga la microestructura deseada, y cada iteración implica varias etapas que se realizan secuencialmente.

En un procedimiento de fotolitografía ejemplar, el material de partida se limpia inicialmente usando un tratamiento químico húmedo (por ejemplo, peróxido de hidrógeno, tricloroetileno, acetona, metanol o similares) para retirar los contaminantes superficiales. A continuación, el material se calienta para evaporar la humedad en la superficie, y se aplica un producto químico tal como bis(trimetilsilil)amina para promover la adhesión de la sustancia fotorresistente a la superficie del material. Usando un procedimiento de recubrimiento por centrifugación, se aplica a continuación una solución de sustancia fotorresistente líquida al material para formar un recubrimiento que tiene un grosor uniforme de, por ejemplo, aproximadamente 3 micrómetros o menos. Las sustancias fotorresistentes ejemplares pueden incluir, pero no se limitan a, poli(metacrilato de metilo) (PMMA), poli(metil glutarimida) (PMGI), resina de fenol-formaldehído, SU-8 y similares. El material recubierto se somete a precocción para evaporar el exceso de solución de sustancia fotorresistente.

El material recubierto con sustancia fotorresistente se somete a un patrón de luz UV o rayos X intensa que provoca un cambio químico en la capa fotorresistente que permite retirar el material fotorresistente usando una solución reveladora tal como hidróxido de tetrametilamonio (TMAH). Si se usa una sustancia fotorresistente "positiva", las regiones expuestas a la luz UV (o rayos X) se pueden disolver en la solución reveladora. De forma alternativa, en el caso de una "sustancia fotorresistente negativa", las regiones no expuestas de la sustancia fotorresistente se pueden disolver en la solución reveladora. Después de una cocción posterior a la exposición (PEB), se aplica la solución reveladora seguida de una "cocción intensa" para solidificar el patrón de sustancia fotorresistente restante en la superficie del material.

A continuación, se puede usar un procedimiento de decapado para retirar las regiones del material no recubiertas por la sustancia fotorresistente, conformando de este modo el patrón geométrico deseado en el material. Esto se puede lograr usando un mordiente líquido (por ejemplo, ácido fluorhídrico, ácido fosfórico, ácido clorhídrico, ácido nítrico, hidróxido de sodio, solución SC-1, disolventes orgánicos y similares) o un mordiente de plasma (por ejemplo, oxígeno, argón y similares). A continuación, la sustancia fotorresistente se puede retirar usando un decapante líquido de la capa protectora, tal como 1-metil-2-pirrolidona (NMP) o un plasma (por ejemplo, que contiene oxígeno).

En la industria de los semiconductores también se usan otras técnicas, tales como litografía por haz de electrones, para modelar materiales sólidos. La litografía por haz de electrones es un procedimiento muy similar a la fotolitografía, como se describe anteriormente, excepto que la litografía por haz de electrones usa un haz de electrones (en lugar de luz) para transferir un patrón geométrico mediante la modificación selectiva de la solubilidad de una capa protectora sensible a los electrones dispuesta en la superficie del material. La litografía con haz de electrones se puede usar para transferir patrones geométricos a una escala muy pequeña (por ejemplo, 10 nm o menos).

En algunos modos de realización de la invención se pueden usar las técnicas de fotolitografía y litografía por haz de electrones descritas anteriormente para retirar regiones de material durante la fabricación de un dispositivo nanofabricado para secuenciar biomoléculas lineales. En algunos modos de realización, se pueden usar las técnicas de deposición usadas en la industria de los semiconductores para agregar regiones de material cuando se forman los dispositivos nanofabricados descritos en el presente documento. Por ejemplo, se pueden usar técnicas de deposición para depositar material en una cavidad o espacio vacío formado por regiones de material que se retiran durante la fotolitografía, seguidas de procedimientos de decapado. Dichas técnicas de deposición pueden incluir, pero no se limitan a, deposición de capas atómicas (ALD), deposición química de vapor (CVD), deposición física de vapor (PVD), pulverización iónica (IBS) y pulverización reactiva.

La ALD implica la deposición de una película delgada al hacer reaccionar uno o más precursores con la superficie de un sustrato de forma autolimitada, y la película resultante crece una capa atómica (o molecular) cada vez con cada iteración. La CVD se refiere a un procedimiento donde un sustrato se expone a uno o más precursores volátiles que reaccionan o se descomponen en la superficie del sustrato, formando de este modo una capa de material depositado. Cualquier subproducto volátil se puede transportar fuera del recipiente de reacción de CVD usando un flujo de gas. En la PVD se deposita una película delgada sobre un sustrato condensando el material deseado de la película de su fase de vapor. La IBS implica generar iones de un material de origen mediante la colisión del material con electrones confinados por un campo magnético en una cámara de vacío. Un campo eléctrico acelera los iones hacia un sustrato, y los iones se neutralizan por electrones de un filamento externo antes de alcanzar el sustrato y formar la capa del material deseado. La pulverización reactiva es similar a la IBS, con la diferencia de que se introduce un gas reactivo (por ejemplo, oxígeno, nitrógeno, CO_2 , C_2H_2 o CH_4) en la cámara de vacío, el gas reacciona con los iones del material de origen para formar capas sobre el sustrato que comprenden, por ejemplo, óxidos, nitruros, metales-DLC, carburos o carbonitruros.

B. Procedimiento de fabricación de un dispositivo nanofabricado

Las FIGS. 3A-3H ilustran un procedimiento de fabricación de un dispositivo nanofabricado para secuenciar una biomolécula lineal usando el efecto túnel cuántico de acuerdo con modos de realización de la presente invención. El procedimiento puede utilizar técnicas de fotolitografía, decapado y deposición usadas en los procedimientos de fabricación de semiconductores existentes para formar un dispositivo por capas que incluye dos electrodos separados por un hueco. El hueco puede tener una anchura que corresponde al tamaño de una biomolécula lineal (por ejemplo, ADN, ARN, polipéptido, proteína o similares) que se desea secuenciar, de modo que una corriente de tunelización cuántica se transmita entre los electrodos cuando una parte (por ejemplo, un base nitrogenada o aminoácido) esté presente en el hueco. Cabe destacar que el procedimiento y el dispositivo resultante representados en las FIGS. 3A-3H son simplemente un ejemplo, y un experto en la técnica apreciará que los modos de realización de la presente invención engloban modificaciones del procedimiento descrito que conducen a modificaciones estructurales del dispositivo resultante.

Como se muestra en la FIG. 3A, el procedimiento puede comenzar proporcionando un sustrato 302 que tiene una superficie superior sobre la que se puede depositar una primera capa dieléctrica 306 como se muestra en la FIG. 3B. La primera capa dieléctrica 306 se puede depositar usando cualquier técnica de deposición adecuada descrita en el presente documento.

La primera capa dieléctrica 306 puede comprender cualquier material eléctricamente aislante adecuado incluyendo, pero sin limitarse a, óxidos, materiales cerámicos dieléctricos, polímeros, carbonatos, vidrios, minerales y aire. Los óxidos ejemplares pueden incluir SiO_2 , Si_2O_3 , Al_2O_3 , ZrO_2 , Fe_2O_3 , MgO , ZnO , Ta_2O_5 , HfO_2 , titanatos y similares. Los materiales cerámicos dieléctricos ejemplares pueden incluir Si_3N_4 , SiC , SiAlON , AlN y similares. Los polímeros ejemplares pueden incluir cauchos hidrocarbonados (por ejemplo, EPM, EPDM y similares), nitrilos, polietilenos, poliuretanos, siliconas y similares. Los carbonatos ejemplares pueden incluir CaCO_3 , MgCO_3 y similares. Los vidrios ejemplares pueden incluir vidrio de sosa cálcica y similares. Los minerales ejemplares pueden incluir mica, esteatita, cordierita y similares.

En algunos modos de realización, como se muestra en las FIGS. 3A-3B, el sustrato 302 puede incluir una segunda capa dieléctrica 312 dispuesta sobre un sustrato semiconductor 314. La segunda capa dieléctrica 312 puede comprender cualquier material eléctricamente aislante adecuado descrito anteriormente con respecto a la primera capa dieléctrica 306. En algunos modos de realización, la primera capa dieléctrica 306 y la segunda capa dieléctrica 312 pueden comprender el mismo material eléctricamente aislante. En otros modos de realización, la primera capa dieléctrica 306 y la segunda capa dieléctrica 312 pueden comprender diferentes materiales eléctricamente aislantes.

En las FIGS. 3A-3B, la primera capa dieléctrica 306 y la segunda capa dieléctrica 312 se representan como dos capas separadas. En dichos modos de realización, el sustrato 302 se puede formar depositando la segunda capa dieléctrica 312 sobre el sustrato semiconductor 314 usando cualquier técnica de deposición adecuada descrita en el presente documento, siendo la superficie superior del sustrato 302 la superficie superior de la segunda capa dieléctrica 312. En algunos otros modos de realización, la primera capa dieléctrica 306 y la segunda capa dieléctrica 312 en combinación pueden ser una capa única de material eléctricamente aislante. Por ejemplo, se puede depositar una única capa dieléctrica que tiene el grosor combinado de la primera capa dieléctrica 306 y la segunda capa dieléctrica 312 mostradas en las FIGS. 3A-3B sobre la superficie superior del sustrato semiconductor 314.

El sustrato semiconductor 314 puede comprender cualquier material semiconductor adecuado incluyendo, pero sin limitarse a, Si, Ge, SiGe, GaAs, InP y similares. En algunos modos de realización, el sustrato semiconductor 314 puede ser un chip de circuito integrado que comprende un circuito 316 que se puede formar dentro del sustrato semiconductor 314 antes, después o durante la fabricación del dispositivo nanofabricado de acuerdo con diversos modos de realización de la invención.

En la FIG. 3C se puede formar una cavidad 306' retirando una región de la primera capa dieléctrica 306. En algunos modos de realización, la cavidad 306' se puede formar usando un procedimiento de fotolitografía donde se aplica una capa fotorresistente a la primera capa dieléctrica de la superficie superior 306 que se muestra en la FIG. 3B. La superficie recubierta con sustancia fotorresistente se puede exponer a continuación a la luz UV en el patrón geométrico deseado, de modo que una región de la sustancia fotorresistente se disuelva cuando se ponga en contacto con una solución reveladora. A continuación, se puede usar un mordiente para decapar selectivamente la región de la primera capa dieléctrica 306 para formar una cavidad 306' mientras se conservan las regiones contiguas de la primera capa dieléctrica 306 protegidas por la sustancia fotorresistente.

Como se muestra en la FIG. 3D, se puede depositar un primer electrodo 304 sobre la superficie superior del sustrato 302 y en la cavidad 306' formada en la primera capa dieléctrica 306. El primer electrodo 304 se puede depositar usando cualquier técnica de deposición adecuada descrita en el presente documento. La estructura resultante, como se muestra en la FIG. 3D, puede incluir el primer electrodo 304 dispuesto en una primera parte de la superficie superior del sustrato 302, y la primera capa dieléctrica 306 dispuesta en una segunda parte de la superficie superior del sustrato 302.

El primer electrodo 304 puede comprender cualquier material eléctricamente conductor adecuado, incluyendo, pero sin limitarse a, metales, semiconductores, carbono, materiales cerámicos conductores y polímeros conductores. Los metales ejemplares pueden incluir Cu, W, Ti, Au, Ag, Al, Zn, Ni, Fe, Pt, Ta y similares. Los semiconductores ejemplares pueden incluir Si, Ge, SiGe, GaAs, InP y similares. Los alótropos y morfologías de carbono ejemplares pueden incluir diamante, grafito, grafeno, nanotubos, nanofibras, fibras de carbono creadas en fase de vapor (VGCF) y similares. En algunos modos de realización, se pueden usar compuestos que contienen carbono como material para el primer electrodo 204 y el segundo electrodo 208. Los materiales cerámicos conductores ejemplares pueden incluir TiN, óxido de indio y estaño (ITO), titanato de estroncio dopado con lantano (SLT), titanato de estroncio dopado con itrio (SYT) y similares. Los polímeros conductores ejemplares pueden incluir poli(pirrol)es (PPY), polianilinas (PANI), poli(tiofeno)s (PT), poli(3,4-etilendioxitiofeno) (PEDOT), poli(sulfuro de p-fenilo) (PPS), poli(acetileno)s (PAC), poli(p-fenileno vinileno) (PPV) y similares.

En algunos modos de realización, después de formar el primer electrodo 304 dentro de la cavidad 306', la sustancia fotorresistente que queda en la superficie superior de la primera capa dieléctrica 306 se puede retirar usando un decapante líquido o de plasma de la capa protectora. En algunos otros modos de realización, la sustancia fotorresistente restante se puede retirar antes de formar el primer electrodo 304 dentro de la cavidad 306'. Además, en algunos modos de realización, la superficie superior del primer electrodo 304 se puede aplanar usando, por ejemplo, un procedimiento de pulido mecánico químico (CMP). En la configuración mostrada en la FIG. 3D, la superficie superior de la primera capa dieléctrica 306 también se puede aplanar por medio de CMP u otro procedimiento, de modo que las superficies superiores de la primera capa dieléctrica 306 y el primer electrodo 304 sean sustancialmente coplanares. En algunos otros modos de realización, el primer electrodo 304 se puede depositar sobre la primera capa dieléctrica 306 y dentro de la cavidad 306'. A continuación, se puede usar un procedimiento de CMP para retirar las partes del primer electrodo 304 depositadas sobre la primera capa dieléctrica 306 y para provocar que las superficies superiores de la primera capa dieléctrica 306 y del primer electrodo 304 sean sustancialmente coplanares. Dicho procedimiento puede ser similar a una técnica de "modelado aditivo" o "damasquinado" donde un material se modela usando CMP en lugar de decapado.

Como se muestra en la FIG. 3E, se puede depositar a continuación una capa fungible 318 sobre una superficie superior del primer electrodo 304. La capa fungible 318 se puede depositar usando cualquier técnica de deposición adecuada descrita en el presente documento. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la capa fungible se puede depositar usando ALD para formar una película delgada que tiene un grosor de aproximadamente 0,8 a 5,0 nm. Como se describe con más detalle a continuación, la capa fungible 318 puede comprender cualquier material adecuado caracterizado por una velocidad de decapado diferente con respecto a los demás materiales usados en el dispositivo. Por ejemplo, la capa fungible 318 puede comprender cualquier metal, óxido, nitruro o material que contenga carbono adecuado descrito en el presente documento. En algunos modos de realización, la superficie superior de la capa

fungible 318 se puede aplanar usando, por ejemplo, un procedimiento de pulido mecánico químico (CMP).

Como se muestra en la FIG. 3F, las cavidades 318' se pueden formar retirando regiones de la capa fungible 318. En algunos modos de realización, las cavidades 318' se pueden formar usando un procedimiento de fotolitografía donde se aplica una capa fotorresistente a la superficie superior de la capa fungible 318. Tras la exposición a la luz UV en el patrón geométrico deseado, las regiones de la sustancia fotorresistente se disuelven cuando se ponen en contacto con una solución reveladora. A continuación, se puede usar un mordiente para decapar selectivamente las regiones de la capa fungible 318 para formar las cavidades 318'. Las regiones de la capa fungible 318 recubiertas de sustancia fotorresistente se pueden conservar durante el procedimiento de decapado, y las regiones fotorresistentes se retiran posteriormente usando un decapante líquido o de plasma de la capa protectora.

Un segundo electrodo 308 se puede depositar a continuación sobre la capa fungible 318 y sobre una superficie superior de la primera capa dieléctrica 306, como se ve en la FIG. 3G. El segundo electrodo 308 se puede depositar usando cualquier técnica de deposición adecuada descrita en el presente documento. Al igual que con el primer electrodo 304, el segundo electrodo 308 puede comprender cualquier material eléctricamente conductor adecuado, incluyendo, pero sin limitarse a, metales, semiconductores, carbono, materiales cerámicos conductores y polímeros conductores. Los metales ejemplares pueden incluir Cu, W, Ti, Au, Ag, Al, Zn, Ni, Fe, Pt, Ta y similares. Los semiconductores ejemplares pueden incluir Si, Ge, SiGe, GaAs, InP y similares. Los alótropos y morfologías de carbono ejemplares pueden incluir diamante, grafito, grafeno, nanotubos, nanofibras, fibras de carbono crecidas en fase de vapor (VGCF) y similares. En algunos modos de realización, se pueden usar compuestos que contienen carbono como material para el primer electrodo 204 y el segundo electrodo 208. Los materiales cerámicos conductores ejemplares pueden incluir TiN, óxido de indio y estaño (ITO), titanato de estroncio dopado con lantano (SLT), titanato de estroncio dopado con itrio (SYT) y similares. Los polímeros conductores ejemplares pueden incluir poli(pirrol)es (PPY), polianilinas (PANI), poli(tiofeno)s (PT), poli(3,4-etilendioxitiofeno) (PEDOT), poli(sulfuro de p-fenilo) (PPS), poli(acetileno)s (PAC), poli(p-fenileno vinileno) (PPV) y similares.

En algunos modos de realización, el primer electrodo 304 y el segundo electrodo 308 pueden comprender el mismo material eléctricamente conductor. En otros modos de realización, el primer electrodo 204 y el segundo electrodo 208 pueden comprender diferentes materiales eléctricamente conductores.

El primer electrodo 304 y el segundo electrodo 308 pueden tener cualquier orientación adecuada entre sí. En algunos modos de realización, el primer electrodo 304 y el segundo electrodo 308 pueden estar orientados ortogonalmente entre sí. En otros modos de realización, el primer electrodo 304 y el segundo electrodo 308 pueden estar orientados paralelos entre sí o en cualquier ángulo adecuado entre 0 y 180°, siempre que haya un hueco 310 entre el primer electrodo 304 y el segundo electrodo 308.

Como se muestra en la FIG. 3H, la capa fungible 318 se puede retirar para formar un hueco 310 definido por una superficie superior del primer electrodo 304 y una superficie inferior del segundo electrodo 308. En algunos modos de realización, la capa fungible 318 se puede retirar por medio de un procedimiento de decapado donde la capa fungible se expone a un mordiente. La capa fungible 318 puede comprender cualquier material adecuado que tenga una velocidad de decapado diferente a la de los demás materiales del dispositivo, tales como el primer electrodo 304, el segundo electrodo 308, la primera capa dieléctrica 306 y el sustrato 302 (que incluye la segunda capa dieléctrica 312 y el sustrato semiconductor 314 en algunos modos de realización). Seleccionando el mordiente adecuado, la capa fungible 318 se puede disolver y los demás materiales del dispositivo no se verán afectados por el mordiente. Los mordientes adecuados para retirar la capa fungible pueden incluir, pero no se limitan a, ácido fluorhídrico, ácido fosfórico, ácido clorhídrico, ácido nítrico, hidróxido de sodio, solución SC-1, disolventes orgánicos y plasma de O₂.

En la FIG. 3G, el segundo electrodo 308 tiene una estructura escalonada debido a que el segundo electrodo 308 es una capa de grosor uniforme depositada tanto sobre la primera capa dieléctrica 306 como sobre la capa fungible 318 dispuesta sobre la superficie superior de la primera capa dieléctrica 306. Como se ve en la FIG. 3H, la estructura escalonada se puede aplanar si se desea por medio de, por ejemplo, un procedimiento de pulido mecánico químico (CMP).

El grosor de la capa fungible 318 y, por tanto, la anchura correspondiente del hueco 310, puede corresponder a un tamaño de una biomolécula lineal de tal manera que se transmita una corriente de tunelización cuántica entre el primer electrodo 304 y el segundo electrodo 308 cuando se aplica una tensión a través del primer electrodo 304 y el segundo electrodo 308 y una parte de la biomolécula lineal está presente en el hueco 310. En algunos modos de realización, la anchura del hueco 310 puede ser de aproximadamente 0,8 a 5,0 nm. Si el dispositivo se va a usar para secuenciar biomoléculas lineales pequeñas tales como ADN o ARN, la anchura del hueco 310 puede ser de aproximadamente 0,8 a 1,2 nm en algunos modos de realización. Para biomoléculas más grandes, tales como polipéptidos o proteínas, la anchura del hueco 310 puede ser de aproximadamente 1,2 a 5,0 nm en algunos modos de realización.

En algunos modos de realización, como se muestra en la FIG. 3H, el hueco 310 puede estar definido adicionalmente por una superficie superior de la primera capa dieléctrica 306 y una superficie lateral del segundo electrodo 308. En dichos modos de realización, la superficie superior de la primera capa dieléctrica 306 y la superficie superior del primer electrodo 304 pueden ser sustancialmente coplanares. En algunos otros modos de realización, el primer electrodo

304 puede estar empotrado de modo que su superficie superior esté en un plano por debajo del formado por la superficie superior de la primera capa dieléctrica 306. En dichos modos de realización, el hueco 310 puede estar definido adicionalmente por una superficie lateral de la primera capa dieléctrica 306, y se puede formar como resultado de que el primer electrodo 304 mostrado en la FIG. 3D se deposite para que tenga un grosor menor que la altura de la cavidad 306' que se muestra en la FIG. 3C. En esta configuración, toda o una parte de la capa fungible 318 mostrada en la FIG. 3E puede llenar la región de la cavidad 306' presente por encima del primer electrodo 304.

Como se describe anteriormente, si el sustrato semiconductor 314 está incluido en el sustrato 302, el sustrato semiconductor 314 puede incluir el circuito 316. En algunos modos de realización, los circuitos 316 pueden estar acoplados eléctricamente al primer electrodo 304 y al segundo electrodo 308. Por ejemplo, los circuitos 316 pueden estar acoplados eléctricamente al primer electrodo 304 usando una primera vía a través de la segunda capa dieléctrica 312, y los circuitos 316 pueden estar acoplados eléctricamente al segundo electrodo 308 usando una segunda vía a través de la segunda capa dieléctrica 312 y la primera capa dieléctrica 306. Los circuitos 316 se pueden configurar para aplicar una tensión a través del primer electrodo 304 y el segundo electrodo 308, y medir la corriente de tunelización cuántica transmitida entre (o la tensión a través de) el primer electrodo 304 y el segundo electrodo 308.

Como se describe en el presente documento, cuando una parte de una biomolécula lineal está presente en el hueco 310 y se aplica una tensión a través del primer electrodo 304 y el segundo electrodo 308, se puede transmitir una corriente de tunelización cuántica entre el primer electrodo 304 y el segundo electrodo 308. La corriente de tunelización cuántica (o la tensión resultante) medida se puede asignar a la parte concreta de la biomolécula presente en el hueco 310. La secuenciación se puede lograr repitiendo las mediciones a medida que la biomolécula atraviesa el hueco 310. Los circuitos 316 se pueden configurar para realizar dichas operaciones de asignación o, de forma alternativa, pueden transmitir mediciones de corriente o tensión a un dispositivo informático externo configurado para realizar algunas o todas las operaciones de asignación.

En las FIGS. 3A-3H se representa que los circuitos 316 están contenidos dentro del sustrato semiconductor 314. En otros modos de realización, todos o una parte de los circuitos 316 pueden estar presentes fuera del sustrato 302. Por ejemplo, uno o más transistores, condensadores, resistencias, diodos y/o inductores de los circuitos 316 pueden residir externamente al sustrato 302 o externamente al dispositivo en su totalidad. En algunos modos de realización, todos o una parte de los circuitos 316 pueden tener la forma de un chip de circuito integrado externo o cualquier otra configuración adecuada externa al dispositivo.

El dispositivo formado por el procedimiento representado en las FIGS. 3A-3H puede ser uno de muchos dispositivos en un solo chip de circuito integrado. Por ejemplo, la superficie superior del sustrato semiconductor 314 puede ser lo suficientemente grande como para soportar una matriz de muchos dispositivos, cada uno de ellos incluyendo la primera capa dieléctrica 306, la segunda capa dieléctrica 312, el primer electrodo 304, el segundo electrodo 308 y el hueco 310. En consecuencia, los procedimientos de acuerdo con los modos de realización de la invención se pueden cambiar de escala de modo que se formen muchos dispositivos en un solo chip de forma simultánea o secuencial. En algunos modos de realización, cada dispositivo se puede formar para que esté separado por una capa dieléctrica para evitar que los electrodos en dispositivos contiguos entren en contacto eléctrico o físico entre sí. En algunos modos de realización, cada dispositivo de una matriz puede incluir sus propios circuitos (por ejemplo, los circuitos 316) para aplicar tensiones y medir la corriente o la tensión de tunelización cuántica generada dentro del dispositivo concreto. En algunos otros modos de realización, los circuitos para múltiples dispositivos se pueden integrar de modo que los circuitos 316 apliquen tensiones y midan las corrientes o tensiones de tunelización cuántica cuando hay biomoléculas lineales en los huecos de algunos o todos los dispositivos de la matriz.

C. Selección de materiales

Como se describe anteriormente, el hueco dimensionado con precisión usado para secuenciar biomoléculas lineales se puede formar depositando una capa fungible dispuesta entre dos electrodos y, a continuación, retirando el material fungible por medio de un procedimiento de decapado, en el que el espacio vacío que queda forma el hueco. Los materiales usados para las capas dieléctricas, los electrodos y la capa fungible, y un mordiente seleccionado, se pueden elegir de modo que cuando el dispositivo que incluye la capa fungible (por ejemplo, en la FIG. 3G) se exponga al mordiente, se disuelva sustancialmente solo la capa fungible para formar el hueco y los demás materiales se conserven. Se pueden usar muchas combinaciones diferentes de materiales y mordientes para lograr el hueco deseado de acuerdo con diversos modos de realización de la invención. Algunas combinaciones ejemplares de materiales y mordientes se proporcionan a continuación en la Tabla 1.

TABLA 1

Material de los electrodos	Material dieléctrico	Material de la capa fungible	Mordiente
----------------------------	----------------------	------------------------------	-----------

Al (u otro metal)	SiO ₂	Carbono	Plasma de O ₂
TiN	Al ₂ O ₃	SiO ₂	Ácido fluorhídrico u otro mordiente que contiene flúor
TiN	Al ₂ O ₃	Si ₃ N ₄	Ácido fluorhídrico u otro mordiente que contiene flúor
Al	SiO ₂ o Si ₃ N ₄	BN	Plasma de O ₂
Al	Si ₂ O ₃ o Si ₃ N ₄	TaN	Solución de SCI (NH ₄ OH:H ₂ O ₂ :H ₂ O)
Ta	SiO ₂	Si ₃ N ₄	Ácido fosfórico

La lista de combinaciones de materiales y mordientes mostrada en la Tabla 1 no es exhaustiva y, por tanto, no pretende ser limitante. Se pueden usar muchas otras combinaciones posibles de materiales y mordientes que tienen diferentes velocidades de decapado de acuerdo con diversos modos de realización de la invención, de modo que el material fungible se pueda decapar sin disolver los demás materiales del dispositivo. Las velocidades de decapado para diversos materiales y mordientes se pueden encontrar en Williams, *et al.*, Etch Rates for Micromachining Processing - Part II, *Journal of Microelectromechanical Systems*, 2003, 12(6), 761-778.

III. PROCEDIMIENTO DE USO DEL DISPOSITIVO NANOFABRICADO

Los modos de realización de la invención también proporcionan procedimientos de uso de un dispositivo nanofabricado para secuenciar biomoléculas lineales a nivel monomolecular y usando el efecto túnel cuántico. Como se describe anteriormente, los dispositivos nanofabricados de la presente invención pueden incluir un hueco dispuesto entre dos electrodos que tiene una anchura pequeña (por ejemplo, de 0,8 a 5,0 nm) y que se forma usando procedimientos de deposición tales como ALD. La anchura del hueco puede corresponder al tamaño de una biomolécula lineal tal como ADN, ARN, un polipéptido, una proteína y similares. Cuando una parte de la biomolécula lineal (por ejemplo, una base nitrogenada o un aminoácido) está presente en el hueco y se aplica una tensión a través de los electrodos, se puede medir un cambio en la corriente de tunelización cuántica.

En algunos modos de realización, está presente una corriente de tunelización cuántica de referencia al aplicar la tensión, de modo que un cambio medido en la corriente de tunelización cuántica puede ser la diferencia entre la corriente de referencia y el incremento (o disminución) de la corriente, provocado por la parte de la biomolécula lineal presente en el hueco en el momento en que se tomó la medición. En algunos otros modos de realización, no se puede transmitir una corriente de tunelización cuántica entre los electrodos a menos que la parte de la biomolécula lineal esté presente en el hueco. En dichos modos de realización, el cambio en la corriente de tunelización cuántica puede ser la magnitud total de la corriente medida.

Los cambios en la tensión a través de los electrodos también se pueden medir para secuenciar biomoléculas lineales de acuerdo con diversos modos de realización de la invención. Por ejemplo, se puede utilizar una fuente de corriente que mantenga una corriente constante a través de los electrodos. Cuando una parte de una biomolécula lineal está presente en el hueco, la impedancia de la parte de la biomolécula puede provocar que cambie la tensión a través de los electrodos.

Los cambios medidos en la corriente o la tensión de tunelización cuántica se pueden asignar a la parte concreta de la biomolécula presente en el hueco en el momento en que se realizó la medición. La secuenciación se puede lograr repitiendo y asignando las mediciones a medida que la biomolécula lineal atraviesa el hueco. En algunos modos de realización, las mediciones se pueden repetir en intervalos de tiempo seleccionados en función de la velocidad a la que la biomolécula atraviesa el hueco.

En la FIG. 4 se muestra un diagrama de flujo que ilustra un procedimiento 400 de uso de un dispositivo para secuenciar una biomolécula lineal usando el efecto túnel cuántico de acuerdo con modos de realización de la presente invención. El dispositivo usado en el procedimiento 400 puede ser el dispositivo 200 ilustrado en las FIGS. 2A-2B. En consecuencia, todos los detalles descritos anteriormente con respecto al dispositivo 200 también se pueden aplicar al dispositivo usado en el procedimiento 400.

En la etapa 402, se puede proporcionar un dispositivo. El dispositivo puede comprender un sustrato que tiene una superficie superior, un primer electrodo dispuesto sobre una primera parte de la superficie superior del sustrato, una primera capa dieléctrica dispuesta sobre una segunda parte de la superficie superior del sustrato, y un segundo

electrodo dispuesto sobre la primera capa dieléctrica y suspendido sobre el primer electrodo. Se puede definir un hueco entre una superficie superior del primer electrodo y una superficie inferior del segundo electrodo.

5 El dispositivo proporcionado puede comprender además circuitos acoplados eléctricamente al primer electrodo y al segundo electrodo. En algunos modos de realización, el sustrato del dispositivo puede incluir una segunda capa dieléctrica dispuesta sobre un sustrato semiconductor. En dichos modos de realización, la totalidad o parte de los circuitos pueden estar incluidos en el sustrato semiconductor. Por ejemplo, los circuitos pueden estar acoplados eléctricamente al primer electrodo usando una primera vía a través de la segunda capa dieléctrica, y los circuitos pueden estar acoplados eléctricamente a un segundo electrodo usando una segunda vía a través de la segunda capa dieléctrica y la primera capa dieléctrica.

15 En la etapa 404 se puede aplicar una tensión a través del primer electrodo y el segundo electrodo usando los circuitos. En algunos modos de realización, la tensión aplicada puede ser una tensión constante. En algunos otros modos de realización, se puede aplicar una tensión variable mediante una fuente de corriente que proporciona una corriente constante a través del primer y segundo electrodos.

20 En la etapa 406, una parte de una biomolécula lineal se puede introducir en el hueco. En algunos modos de realización, la biomolécula lineal puede ser ADN, ARN, un polipéptido o una proteína. En dichos modos de realización, la parte de la biomolécula lineal presente en el hueco puede ser una base nitrogenada o una proteína.

25 Muchos protocolos de biología molecular bien conocidos, tales como los protocolos para la captación de ácidos nucleicos, el aislamiento de ADN, ARN o proteínas, la preparación de plantillas de ADN monocatenario y similares, se pueden adaptar para su uso en procedimientos de secuenciación y se pueden usar para preparar las biomoléculas para la secuenciación de acuerdo con diversos modos de realización de la invención. Hay muchos ejemplos de enfoques y kits disponibles comercialmente para el aislamiento y la creación de plantillas de ADN monocatenario que serían conocidos por los expertos en la técnica, tales como los kits de aislamiento de ADN y ARN disponibles de Thermo Fisher Scientific, Inc. (Waltham, Mass.). Sin embargo, estos son solo ejemplos concretos de muchos de dichos enfoques y no pretenden ser limitantes.

30 En algunos modos de realización, la biomolécula se puede introducir en el hueco por medio de uno o más canales fabricados directamente sobre la región del dispositivo que contiene el hueco entre los electrodos o en una cubeta de lectura montada en el dispositivo. Los canales se pueden formar usando una gran variedad de técnicas tales como mecanización, moldeo, prensado, nanofabricación y similares. La plantilla que se va a secuenciar se puede cargar en el dispositivo, por ejemplo, colocando una gotita de líquido que contiene la plantilla en un canal. La difusión por sí sola puede permitir que la plantilla cruce a través de los electrodos. En algunos modos de realización, dado que las biomoléculas pueden estar cargadas, se pueden dirigir para que fluyan a través del hueco aplicando una polarización eléctrica descendente en el canal mediante la aplicación de un potencial eléctrico a través de los electrodos localizados en ambos extremos del canal. A continuación, las biomoléculas se pueden mover electroforéticamente por el canal descendentemente y pasar a través del hueco que separa los electrodos. De forma alternativa, si las biomoléculas son lo suficientemente grandes, se puede usar la polarizabilidad de la molécula para mover la molécula a través del hueco usando la dielectroforesis como mecanismo. Las técnicas de dielectroforesis se describen con más detalle en Ivanov *et al.*, ACS Nano 9 (2015) 3587-3595.

45 En la etapa 408, los circuitos se pueden usar para medir una corriente de tunelización cuántica transmitida entre el primer electrodo y el segundo electrodo, la tensión a través del primer electrodo y el segundo electrodo, o una impedancia entre el primer electrodo y el segundo electrodo. Por ejemplo, cuando la parte de la biomolécula lineal está presente en el hueco, su impedancia o conductancia puede provocar que la corriente (o tensión) a través del primer y segundo electrodos cambie. En algunos modos de realización, el cambio puede ser relativo a un nivel de referencia de corriente o tensión a través de los electrodos cuando no hay una biomolécula presente entre ellos. En otros modos de realización, el cambio puede ser relativo a corriente o tensión cero que alcanza un valor distinto de cero solo cuando está presente la biomolécula lineal.

55 En la etapa 410, la parte de la biomolécula lineal introducida en el hueco se puede identificar basado en la corriente de tunelización cuántica, la tensión o la impedancia medida. En algunos modos de realización, los datos de asignación que incluyen valores de corriente, valores de tensión y/o valores de impedancia para diversas partes de la biomolécula lineal se pueden almacenar en una tabla de datos u otra estructura de datos. En algunos modos de realización, los datos de asignación se pueden almacenar dentro del dispositivo. En algunos otros modos de realización, los datos de asignación se pueden almacenar en un dispositivo informático externo que recibe las mediciones de corriente, tensión o impedancia del dispositivo. En todo caso, los datos de asignación se pueden comparar con las mediciones de corriente o tensión para determinar la parte de la biomolécula lineal que estaba presente en el hueco en el momento en que se realizó la medición.

65 Las mediciones se pueden repetir en un intervalo de tiempo basado en la velocidad a la que la biomolécula lineal atraviesa el hueco. Mediante la asignación de la serie de mediciones a partes de la biomolécula lineal, la biomolécula se puede secuenciar de este modo.

IV. SISTEMA INFORMÁTICO

Uno o más de los procedimientos descritos en el presente documento para secuenciar biomoléculas lineales mediante la asignación de los cambios de la corriente, la tensión o la impedancia medida a partes concretas de la biomolécula lineal se pueden lograr mediante un sistema informático incorporado o externo a un dispositivo nanofabricado.

En la FIG. 5 se muestra un diagrama de bloques de un sistema informático ejemplar 500 que se puede usar para secuenciar biomoléculas lineales usando el efecto túnel cuántico de acuerdo con modos de realización de la presente invención. Como se ve en la FIG. 5, el sistema informático 500 puede utilizar una serie de subsistemas. En algunos modos de realización, el sistema informático 500 puede incluir un único aparato informático, donde los subsistemas pueden ser los componentes del aparato informático. En otros modos de realización, el sistema informático 500 puede incluir múltiples aparatos informáticos, cada uno de ellos siendo un subsistema, con componentes internos. El sistema informático 500 puede incluir uno o más ordenadores de sobremesa, ordenadores portátiles, tabletas, teléfonos móviles u otros tipos de dispositivos informáticos.

Los subsistemas mostrados en la FIG. 5 están interconectados por medio de un bus de sistema 512. Se muestran subsistemas adicionales tales como una impresora 508, un teclado 518, uno o más dispositivos de almacenamiento 520, un monitor 524, que está acoplado al adaptador de pantalla 514, y otros. Los periféricos y dispositivos de entrada/salida (E/S), que se acoplan al controlador de E/S 502, se pueden conectar al sistema informático 500 mediante incontables medios conocidos en la técnica, tales como el puerto de entrada/salida (E/S) 516 (por ejemplo, USB, FireWire®). Por ejemplo, se puede usar el puerto de E/S 516 o una interfaz externa 522 (por ejemplo, Ethernet, Wi-Fi, etc.) para conectar el sistema informático 500 a una red de área amplia tal como Internet, un dispositivo de entrada de ratón o un escáner. La interconexión por medio del bus de sistema 512 permite que un procesador central 506 se comunique con cada subsistema y controle la ejecución de instrucciones desde la memoria del sistema 504 o el dispositivo o dispositivos de almacenamiento 520 (por ejemplo, un disco fijo, tal como un disco duro o un disco óptico), así como el intercambio de información entre los subsistemas. La memoria del sistema 504 y/o el dispositivo o dispositivos de almacenamiento 520 pueden incorporar un medio legible por ordenador. Otro subsistema es un dispositivo de recogida de datos 510, tal como una cámara, un micrófono, un acelerómetro o similares. Cualquiera de los datos mencionados en el presente documento se puede enviar de un componente a otro componente y se puede enviar al usuario.

El sistema informático 500 puede incluir una pluralidad de los mismos componentes o subsistemas, por ejemplo, conectados conjuntamente mediante la interfaz externa 522 o mediante una interfaz interna. En algunos modos de realización, los sistemas, subsistemas o equipos informáticos se pueden comunicar a través de una red. En dichos casos, un ordenador se puede considerar un cliente y otro ordenador un servidor, donde cada uno puede formar parte de un mismo sistema informático. Un cliente y un servidor pueden incluir cada uno varios sistemas, subsistemas o componentes.

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo para secuenciar una biomolécula lineal usando el efecto túnel cuántico, comprendiendo el dispositivo:
- 5 un sustrato que tiene una superficie superior;
- un primer electrodo dispuesto sobre una primera parte de la superficie superior del sustrato;
- 10 una primera capa dieléctrica dispuesta sobre una segunda parte de la superficie superior del sustrato;
- un segundo electrodo dispuesto sobre la primera capa dieléctrica y suspendido sobre el primer electrodo; y
- 15 un hueco definido por una superficie superior del primer electrodo y una superficie inferior del segundo electrodo, en el que una anchura del hueco corresponde a un tamaño de la biomolécula lineal de modo que se transmite una corriente de tunelización cuántica entre el primer electrodo y el segundo electrodo cuando:
- se aplica una tensión a través del primer electrodo y el segundo electrodo; y
- 20 una parte de la biomolécula lineal está presente en el hueco.
2. El dispositivo de la reivindicación 1, en el que el sustrato comprende una segunda capa dieléctrica dispuesta sobre un sustrato semiconductor.
- 25 3. El dispositivo de las reivindicaciones 1-2, en el que la anchura del hueco es de aproximadamente 0,8 a 5,0 nm.
4. El dispositivo de las reivindicaciones 1-3, en el que el hueco está definido adicionalmente por una superficie superior de la primera capa dieléctrica y una superficie lateral del segundo electrodo.
- 30 5. El dispositivo de la reivindicación 4, en el que la superficie superior de la primera capa dieléctrica y la superficie superior del primer electrodo son sustancialmente coplanares.
6. El dispositivo de las reivindicaciones 1-5, en el que el primer electrodo y el segundo electrodo están orientados ortogonalmente entre sí.
- 35 7. El dispositivo de las reivindicaciones 1-6, que comprende además circuitos acoplados eléctricamente al primer electrodo y al segundo electrodo, en el que los circuitos están configurados para: aplicar la tensión a través del primer electrodo y el segundo electrodo; y medir:
- 40 la corriente de tunelización cuántica transmitida entre el primer electrodo y el segundo electrodo;
- la tensión a través del primer electrodo y el segundo electrodo; o
- 45 una impedancia entre el primer electrodo y el segundo electrodo.
8. El dispositivo de las reivindicaciones 1-7, en el que el primer electrodo y el segundo electrodo comprenden individualmente un material seleccionado de un grupo que consiste en metales, semiconductores, carbono, materiales cerámicos conductores y polímeros conductores.
- 50 9. El dispositivo de las reivindicaciones 1-8, en el que la primera capa dieléctrica comprende un material seleccionado del grupo que consiste en óxidos, materiales cerámicos dieléctricos, polímeros, carbonatos, vidrios, minerales y aire.
- 55 10. Un procedimiento de fabricación de un dispositivo para secuenciar una biomolécula lineal usando el efecto túnel cuántico, comprendiendo el procedimiento:
- proporcionar un sustrato que tiene una superficie superior;
- 60 depositar un primer electrodo sobre una primera parte de la superficie superior del sustrato;
- depositar una primera capa dieléctrica sobre una segunda parte de la superficie superior del sustrato;
- depositar una capa fungible sobre una superficie superior del primer electrodo;
- 65 depositar un segundo electrodo sobre la capa fungible y sobre una superficie superior de la primera capa dieléctrica;

y

5 retirar la capa fungible, formando de este modo un hueco definido por la superficie superior del primer electrodo y una superficie inferior del segundo electrodo, en el que una anchura del hueco corresponde a un tamaño de la biomolécula lineal de modo que se transmite una corriente de tunelización cuántica entre el primer electrodo y el segundo electrodo cuando:

se aplica una tensión a través del primer electrodo y el segundo electrodo; y

10 una parte de la biomolécula lineal está presente en el hueco.

11. El procedimiento de la reivindicación 10, en el que la capa fungible se deposita adicionalmente sobre la superficie superior de la primera capa dieléctrica, y en el que el hueco está definido adicionalmente por la superficie superior de la primera capa dieléctrica y una superficie lateral del segundo electrodo.

15 12. El procedimiento de la reivindicación 10, en el que el primer electrodo y el segundo electrodo están orientados ortogonalmente entre sí.

20 13. El procedimiento de la reivindicación 10, en el que la capa fungible se deposita usando un procedimiento de deposición de capas atómicas.

14. El procedimiento de la reivindicación 10, en el que la capa fungible se retira usando un procedimiento de decapado, y en el que el procedimiento de decapado incluye exponer la capa fungible a un mordiente.

25 15. Un procedimiento de secuenciación que comprende:

a) proporcionar un dispositivo de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 9;

30 b) aplicar una tensión a través del primer electrodo y el segundo electrodo;

c) introducir una parte de una biomolécula lineal en el hueco;

d) medir:

35 una corriente de tunelización cuántica transmitida entre el primer electrodo y el segundo electrodo; y/o

la tensión a través del primer electrodo y el segundo electrodo; y/o

una impedancia entre el primer electrodo y el segundo electrodo; e

40 e) identificar, basado en la corriente de tunelización cuántica medida, la tensión medida o la impedancia medida, la parte de la biomolécula lineal introducida en el hueco.

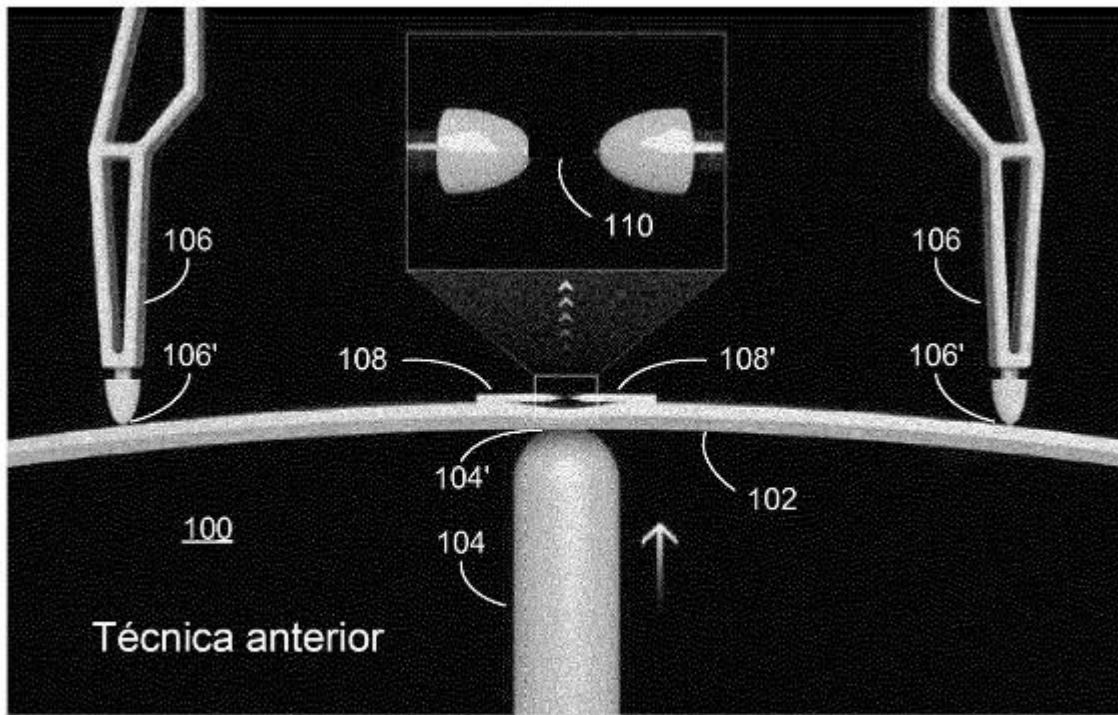


FIG. 1A

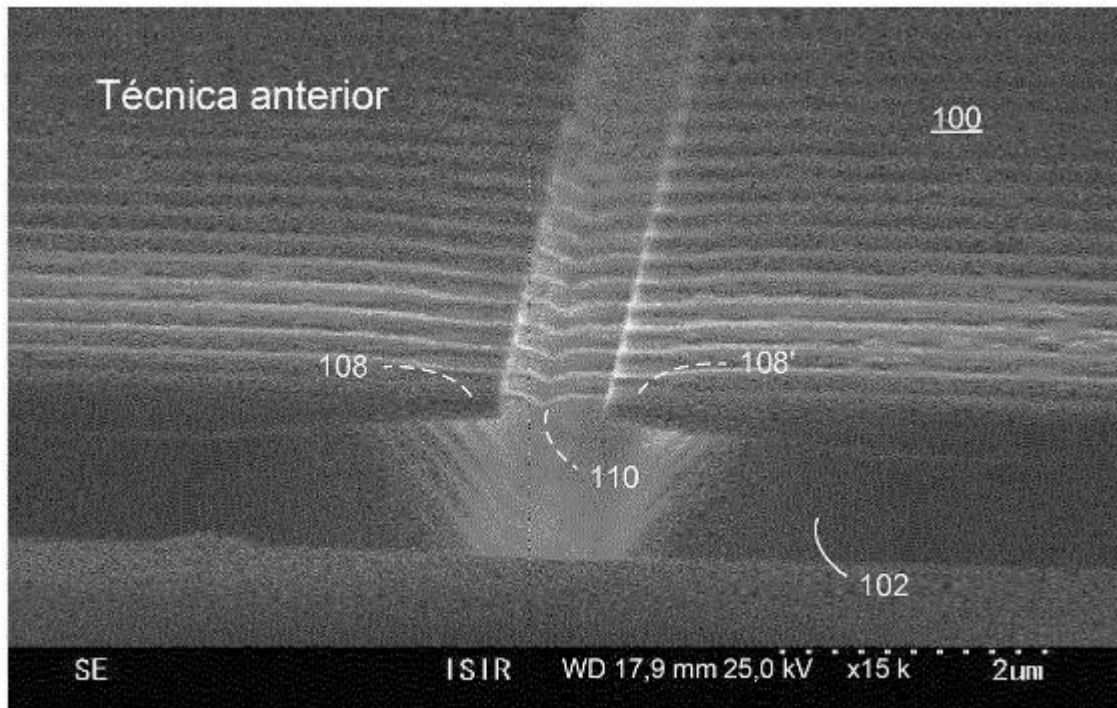


FIG. 1B

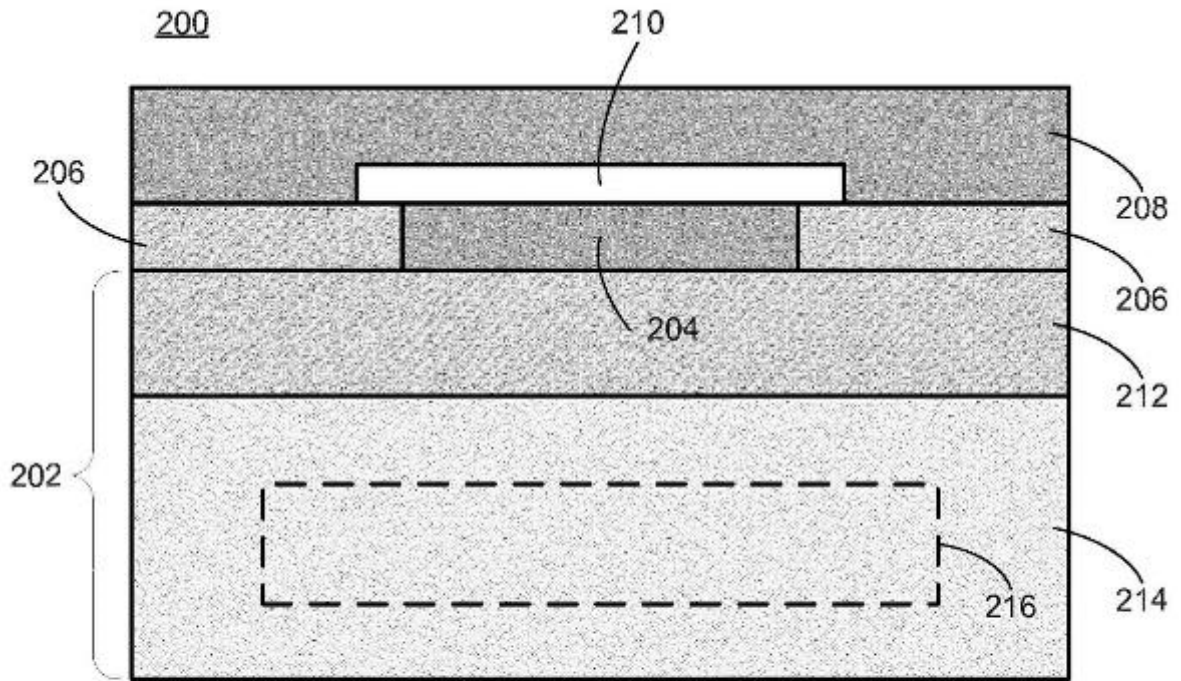


FIG. 2A

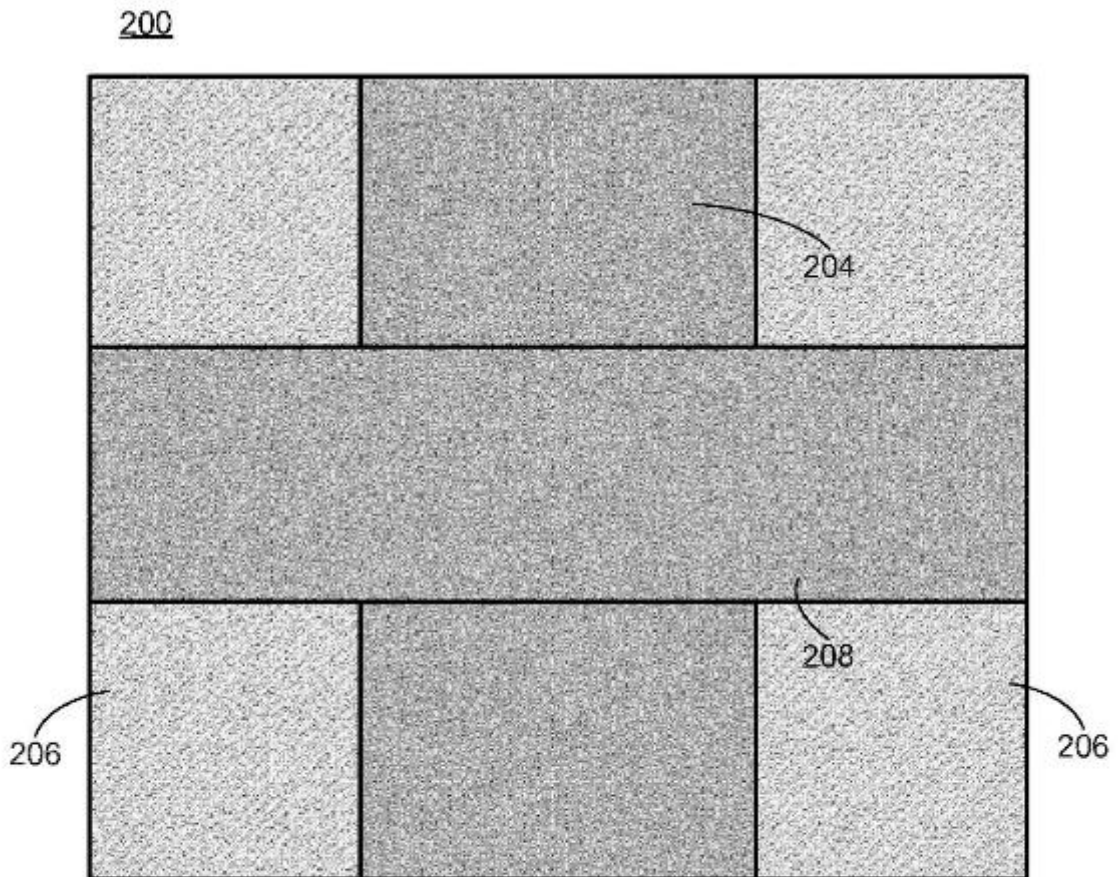


FIG. 2B



FIG. 3A

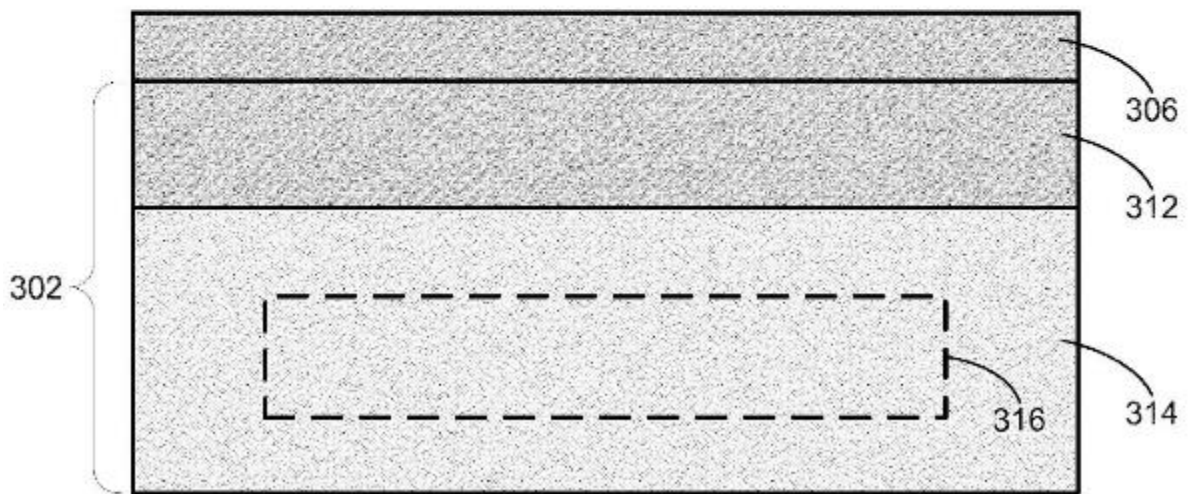


FIG. 3B

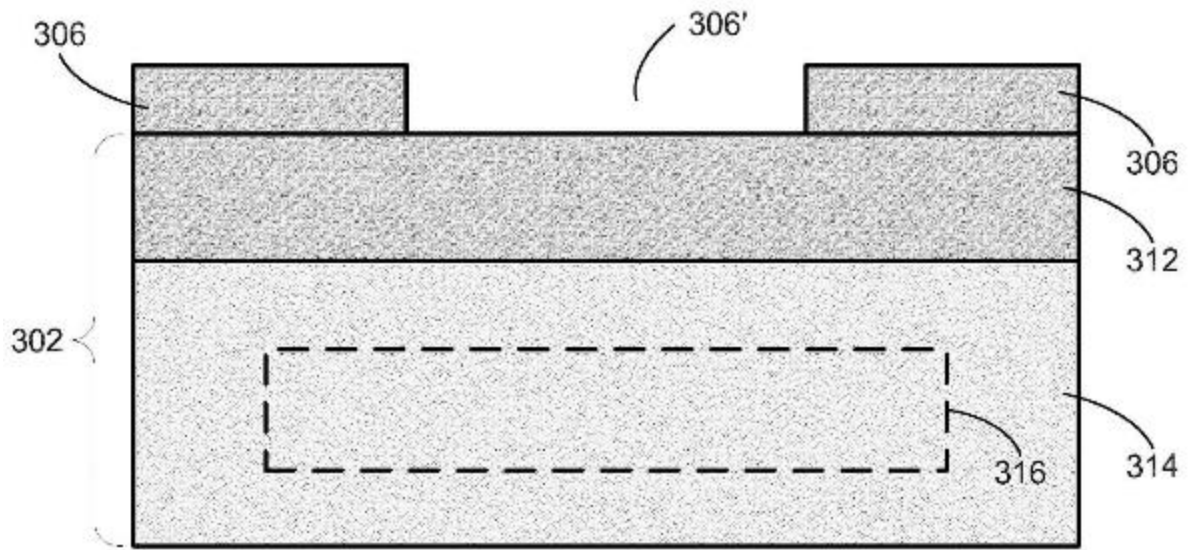


FIG. 3C

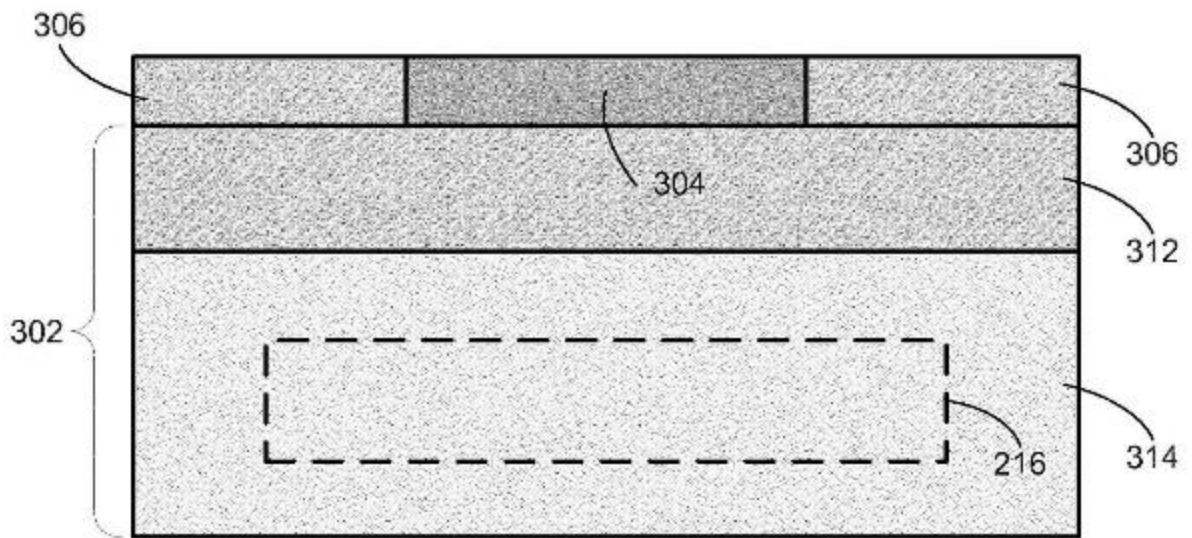


FIG. 3D

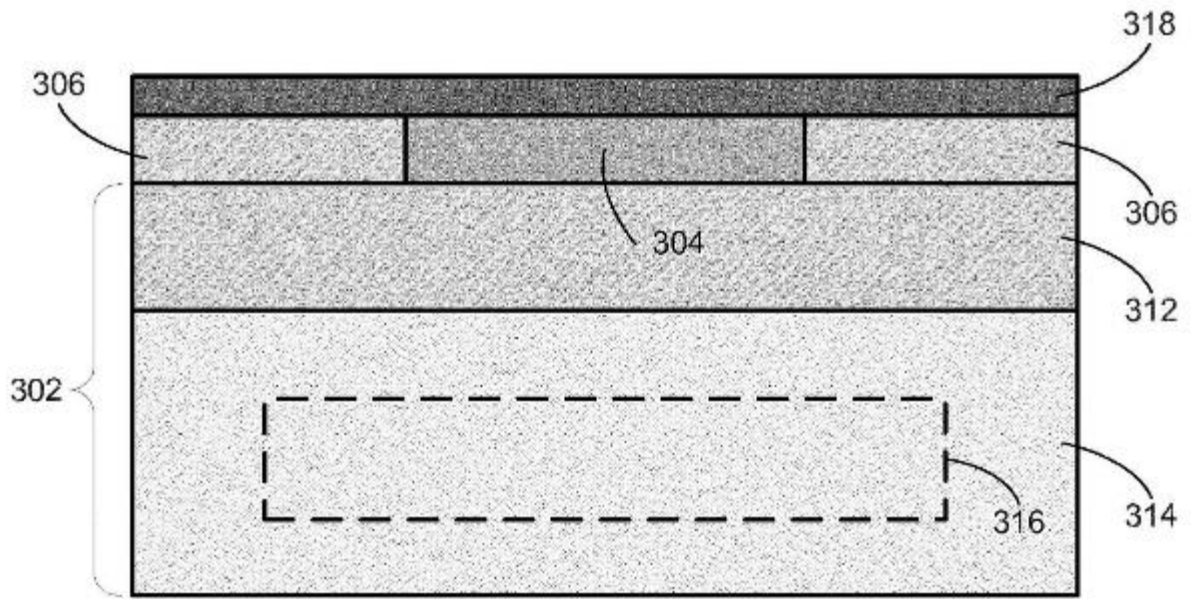


FIG. 3E

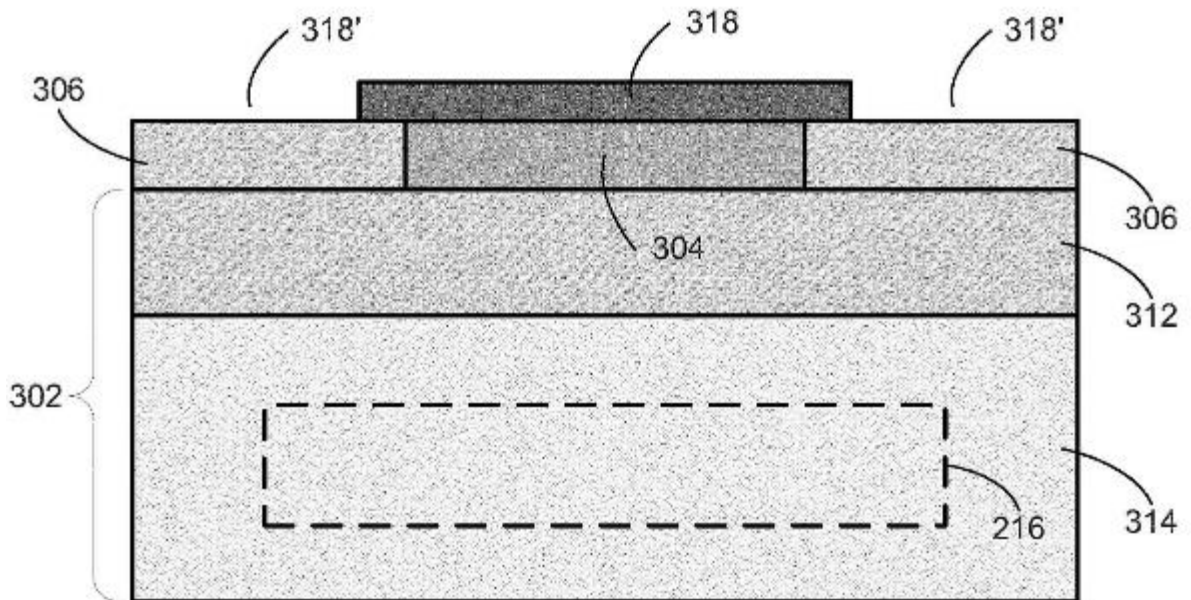


FIG. 3F

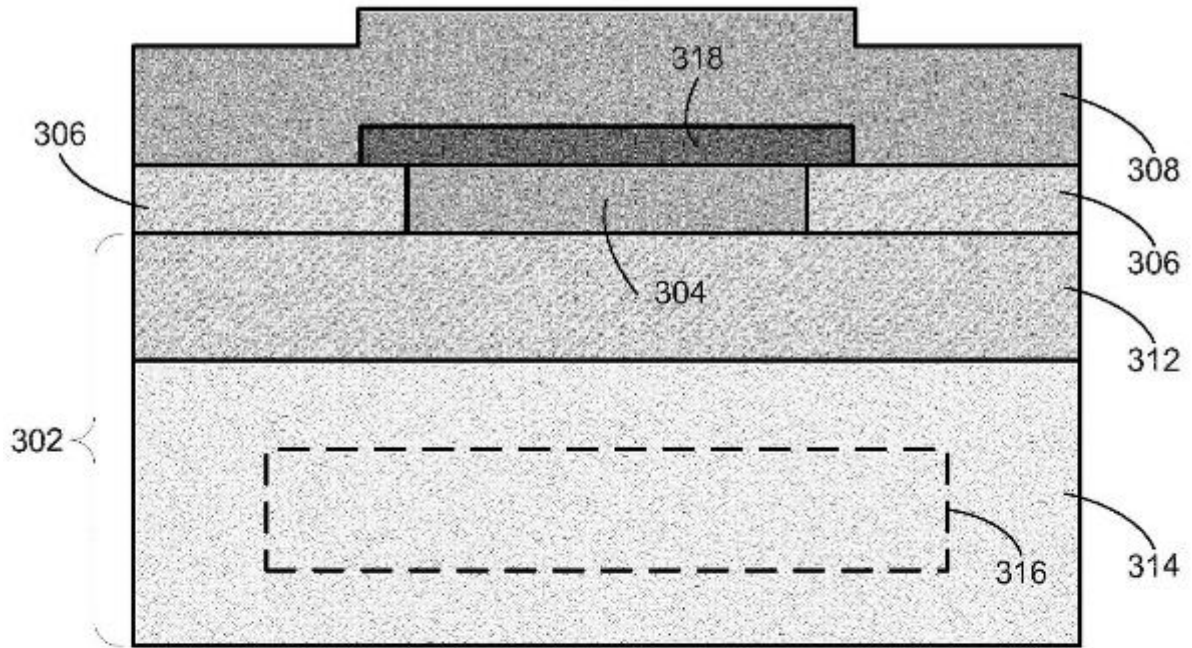


FIG. 3G

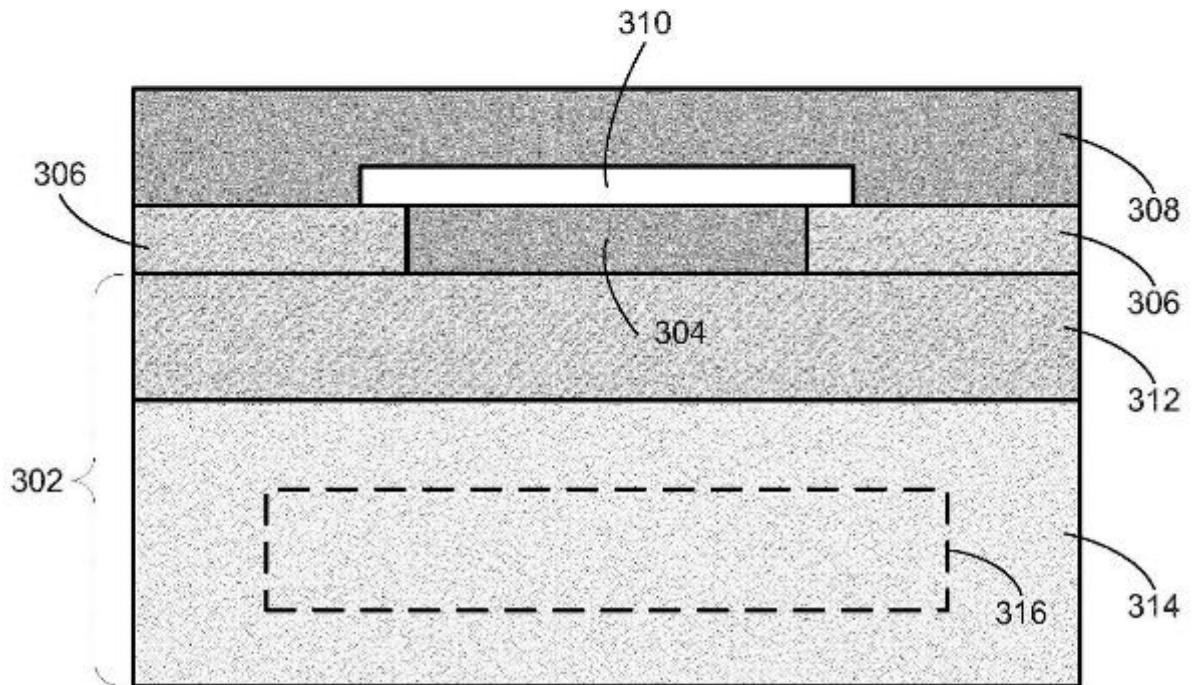


FIG. 3H

400

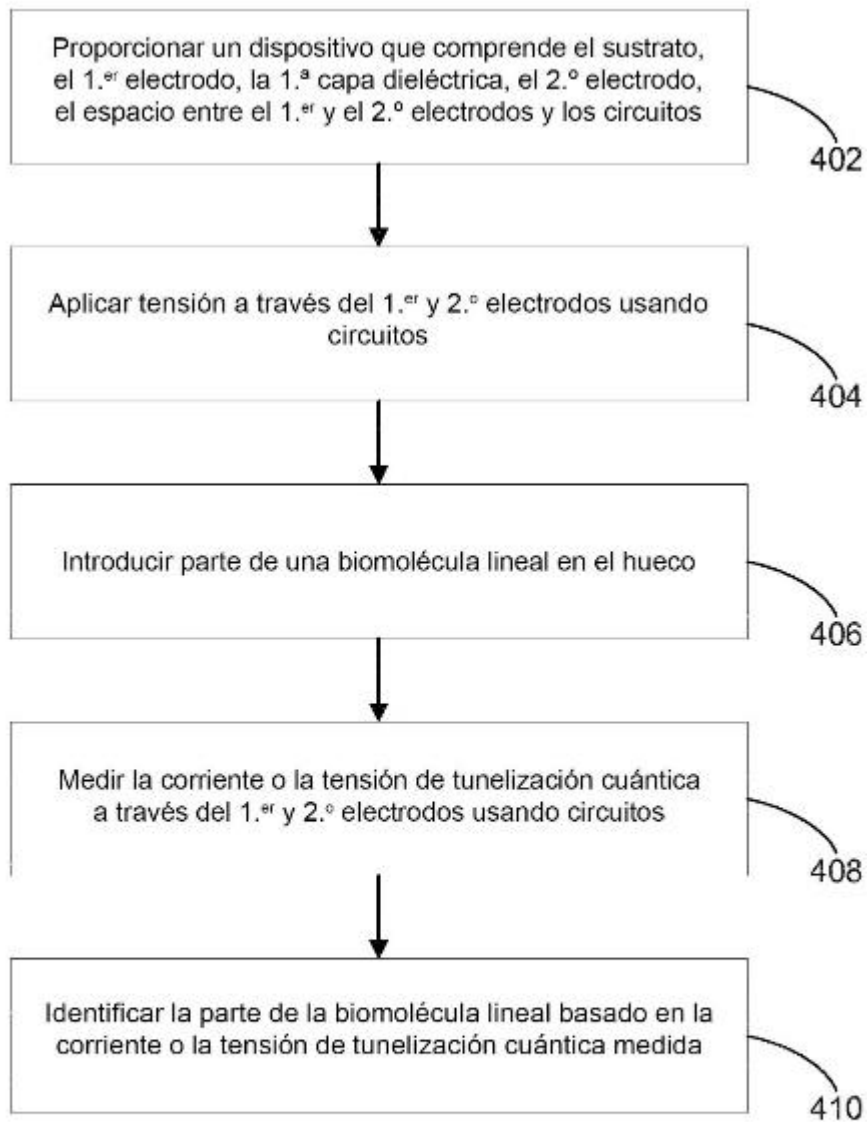


FIG. 4

500

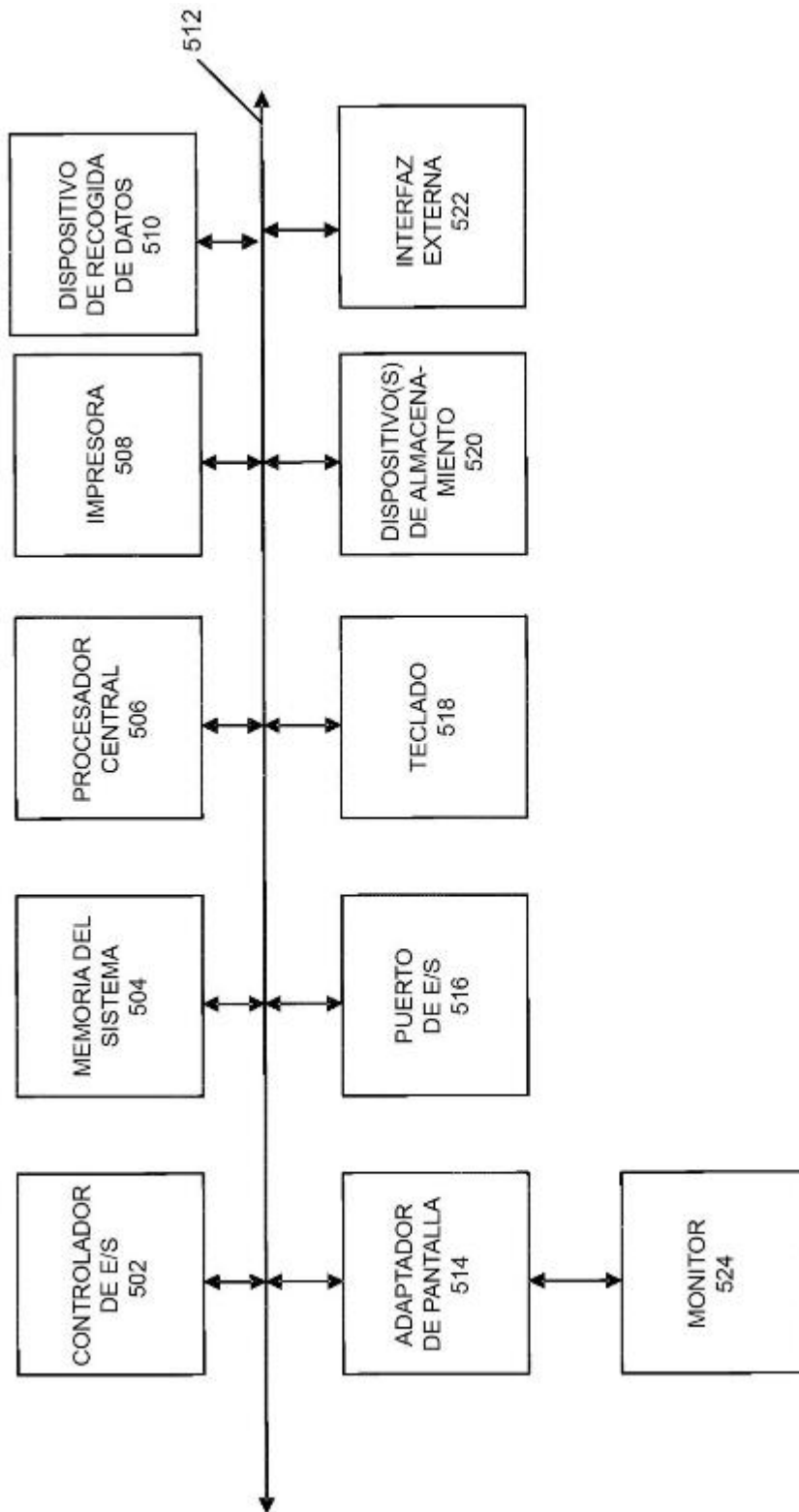


FIG. 5